

VYSOKÁ ŠKOLA BÁŇSKÁ – TECHNICKÁ UNIVERZITA OSTRAVA
FAKULTA MATERIÁLOVĚ – TECHNOLOGICKÁ
KATEDRA CHEMIE



DIPLOMOVÁ PRÁCE

**Vliv sekundární nukleace na fyzikální vlastnosti aktivních farmaceutických
substancí**

**The Effect of Secondary Nucleation on the Physical Properties
of Active Pharmaceutical Ingredients**

Autor práce: Bc. Denis Lampa

Vedoucí práce: doc. Ing. Marek Večeř, Ph.D.

Konzultant práce: Ing. Roman Gabriel, Ph.D.

2019

Zadání diplomové práce

Student:

Bc. Denis Lampa

Studijní program:

N3909 Procesní inženýrství

Studijní obor:

2805T019 Chemické a environmentální inženýrství

Téma:

**Vliv sekundární nukleace na fyzikální vlastnosti aktivních
farmaceutických substancí**
**The effect of secondary nucleation on the physical properties of
active pharmaceutical ingredients**

Jazyk vypracování:

čeština

Zásady pro vypracování:

1. Literární rešerše na téma základní parametry, které ovlivňují proces krystalizace aktivních farmaceutických substancí a jejich fyzikální, povrchové a objemové vlastnosti.
2. Prostudování uvedené odborné literatury.
3. Experimentální práce:
 - 3.1. Seznámení se s experimentální aparaturou.
 - 3.2. Navržení a provedení krystalizačních experimentů.
 - 3.3. Vyhodnocení a interpretace experimentálních výsledků z pohledu fyzikálních, povrchových a objemových vlastností.
4. Zpracování výsledků do publikovatelné podoby.

Seznam doporučené odborné literatury:

1. Tung Hsien-Hsing, Edward L. Paul, Midler M., Mc Cauley J., A. (2009) *Crystallization of organic compounds: An Industrial Perspective*. Wiley, New Jersey. ISBN: 978-0-471-46780-9
2. Mullin, J. W., (2001) *Crystallization*. 4. ed. Butterworth – Heineman Ltd., Oxford. ISBN: 978-0-7506-4833-2
3. Kratochvíl B. (2007) Krystalizace farmaceutických substancí. *Chemické listy* 101, 3-12.
4. Hilfiker, R. (2006) *Polymorphism in Pharmaceutical Industry*. Wiley. New Jersey. ISBN: 978-3-527-31146-0
5. Stahl P. Heinrich, Wermuth G. Camille (Eds.): *Handbook of Pharmaceutical Salt: Properties, Selection and Use*, Wiley-VCH, Weinheim 2002
6. Byrn Stephen, R., Zografi George, Chen Xiaoming: *Solid-State properties of Pharmaceutical Material*. Wiley, 2017
7. Původní časopisecká sdělení dle vlastní literární rešerše

Formální náležitosti a rozsah diplomové práce stanoví pokyny pro vypracování zveřejněné na webových stránkách fakulty.

Vedoucí diplomové práce: **doc. Ing. Marek Večeř, Ph.D.**

Konzultant diplomové práce: Ing. Roman Gabriel, Ph.D.

Datum zadání: 30.11.2018

Datum odevzdání: 23.04.2019



prof. Ing. Petr Praus, Ph.D.
vedoucí katedry

prof. Ing. Jana Dobrovská, CSc.
děkanka fakulty

Zásady pro vypracování diplomové práce

I.

Diplomovou prací (dále jen DP) se ověřují vědomosti a dovednosti, které student získal během studia, a jeho schopnosti využívat je při řešení teoretických i praktických problémů.

II.

Uspořádání diplomové práce:

- | | |
|--|--|
| 1. Titulní list | 6. Abstrakt + klíčová slova česky a anglicky |
| 2. Originál zadání DP | 7. Obsah DP |
| 3. Zásady pro vypracování DP | 8. Textová část DP |
| 4. Prohlášení + místopřísežné prohlášení | 9. Seznam použité literatury |
| 5. Prohlášení spolupracující právnické nebo fyzické osoby o souhlasu se zveřejněním DP | 10. Přílohy |

- ad 1) Titulní list je koncipován podle požadavků příslušné oborové katedry.
- ad 2) Originál zadání DP student obdrží na své oborové katedře.
- ad 3) Tyto „Zásady pro vypracování diplomové práce“ následují za originálem zadání DP.
- ad 4) Prohlášení + místopřísežné prohlášení napsané na zvláštním a vlastnoručně podepsané studentem s uvedením data odevzdání DP.
- ad 5) V případě, že DP vychází ze spolupráce s jinými právnickými a fyzickými osobami a obsahuje citlivé údaje, je na zvláštním listě vloženo prohlášení spolupracující právnické nebo fyzické osoby o souhlasu se zveřejněním DP.
- ad 6) Abstrakt a klíčová slova jsou uvedena na zvláštním listu česky a anglicky v rozsahu max. 1 strany pro obě jazykové verze.
- ad 7) Obsah DP se uvádí na zvláštním listu. Zahrnuje názvy všech očíslovaných kapitol, podkapitol a statí textové části DP, odkaz na seznam příloh a seznam použité literatury s uvedením příslušné stránky. Předpokládá se desetinné číslování.
- ad 8) Textová část DP obvykle zahrnuje:
- Úvod, obsahující charakteristiku řešeného problému a cíle jeho řešení v souladu se zadáním DP;
 - Vlastní rozpracování DP (včetně obrázků, tabulek, výpočtů) s dílčími závěry vhodně členěné do kapitol a podkapitol podle povahy problému;
 - Závěr, obsahující celkové hodnocení výsledků DP z hlediska stanoveného zadání.

DP bude zpracována v rozsahu min. cca 45 stran (včetně obsahu a seznamu použité literatury).

Text musí být napsán vhodným textovým editorem počítače po jedné straně bílého nelesklého papíru formátu A4 při respektování následující doporučené úpravy - písmo Times New Roman 12b; řádkování 1,5; okraje – horní, dolní – 2,5 cm, levý – 3 cm, pravý 2 cm. Fotografie, schémata, obrázky, tabulky musí být očíslovány a musí na ně být v textu poukázáno. Budou zařazeny průběžně v textu, pouze je-li to nezbytně nutné, jako přílohy (viz ad 10).

Odborná terminologie práce musí odpovídat platným normám. Všechny výpočty musí být přehledně uspořádány tak, aby každý odborník byl schopen přezkoušet jejich správnost. Matematické vzorce musí být číslovány (v kulatých závorkách). U vzorců, údajů a hodnot převzatých z odborné literatury nebo z praxe musí být uveden jejich pramen - u literatury citován číselným odkazem (v hranatých závorkách) na seznam použité literatury. Nedostatky ve způsobu vyjadřování, nedostatky gramatické, neopravené chyby v textu mohou snížit klasifikaci práce.

ad 9) DP bude obsahovat alespoň 15 literárních odkazů, z toho nejméně 5 v některém ze světových jazyků. Seznam použité literatury se píše na zvláštním listě. Citaci literatury je nutno uvádět důsledně v souladu s ČSN ISO 690. Na práce uvedené v seznamu použité literatury musí být uveden odkaz v textu DP.

ad 10) Přílohy budou obsahovat jen ty části (speciální výpočty, zdrojové texty programů aj.), které nelze vhodně včlenit do vlastní textové části např. z důvodu ztráty srozumitelnosti.

III.

Diplomovou práci student odevzdá ve dvou knihařsky svázaných vyhotoveních, pokud katedra garantující studijní obor neurčí jiný počet. Vnější desky budou označeny takto:

nahoře: *Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava*
Fakulta materiálově - technologická
Katedra

uprostřed: *DIPLOMOVÁ PRÁCE*

dole: *Rok* *Jméno a příjmení*

Kromě těchto dvou knihařsky svázaných výtisků odevzdá student kompletní práci také v elektronické formě do IS EDISON. Práce vložená v elektronické formě do IS EDISON se musí zcela shodovat s prací odevzdanou v tištěné formě. Po vložení DP do IS EDISON bude provedena její kontrola na plagiátorství.

IV.

Nesplnění výše uvedených zásad pro vypracování diplomové práce může být důvodem nepřijetí práce k obhajobě. O nepřijetí práce k obhajobě rozhoduje v tomto případě garant příslušného studijního oboru. Tyto zásady jsou závazné pro studenty všech studijních programů a forem magisterského, resp. navazujícího magisterského studia Fakulty materiálově – technologické, Vysoké školy báňské – Technické univerzity Ostrava od akademického roku 2018/2019.

Ostrava 12. 11. 2018


Prof. Ing. Jana Dobrovská, CSc.
děkanka Fakulty materiálově- technologické
VŠB-TU Ostrava

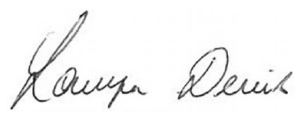
PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- jsem byl seznámen s tím, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. – autorský zákon, zejména §35 – užití díla v rámci občanských a náboženských obřadů, v rámci školních představení a užití díla školního (§60 – školní dílo);
- beru na vědomí, že Vysoká škola báňská – Technická univerzita Ostrava (dále jen VŠB – TUO) má právo nevýdělečně ke své vnitřní potřebě diplomovou práci užít (§35 odst. 3);
- souhlasím s tím, že diplomová práce bude archivována v elektronické formě v databázi Ústřední knihovny VŠB – TUO a jeden výtisk bude uložen u vedoucího bakalářské práce. Souhlasím s tím, že údaje o diplomové práci budou zveřejněny v informačním systému VŠB-TUO;
- bylo sjednáno, že s VŠB – TUO, v případě zájmu z její strany, uzavřu licenční smlouvu s oprávněním užít dílo v rozsahu §12 odst. 4 autorského zákona;
- bylo sjednáno, že užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití mohu jen se souhlasem VŠB – TUO, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly VŠB – TUO na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že odevzdáním své diplomové práce souhlasím s jejím zveřejněním podle zákona č. 111/1998Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (Zákon o vysokých školách) bez ohledu na výsledek její obhajoby.

Místopřísežně prohlašuji, že jsem celou diplomovou práci vypracoval samostatně.

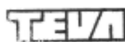
V Ostravě 23. 4. 2019


.....
Bc. Denis Lampa

PROHLÁŠENÍ ZÁSTUPCE SPOLUPRACUJÍCÍ PRÁVNICKÉ NEBO FYZICKÉ OSOBY

společnost Teva Czech Industries, s. r. o.
se sídlem Ostravská 305/29, 747 70 Opava-Komárov
IČO: 26785323
zastoupená panem RNDr. Alešem Gavendou, Ph.D.

Souhlasím se zveřejněním této diplomové práce dle požadavků čl. 26, odst. 9
Studijního a zkušebního řádu pro studium v magisterských studijních programech
VŠB - TU Ostrava.



Teva Czech Industries s.r.o.
Ostravská 29, č.p. 305
747 70 Opava, Komárov
IČ: 26 78 53 23

Datum: 23. 4. 2019

.....
Razítko a podpis zástupce spolupracující osoby

ABSTRAKT

Diplomová práce je zaměřena na zjištění fyzikálních, ale také fyzikálně-chemických vlastností Nicergolinu, připraveného různými rekrytalizačními způsoby, při kterých se uplatňují mechanismy sekundární nukleace.

V teoretické části je popsána nukleace a jsou přiblíženy především mechanismy sekundární nukleace. Dále pak instrumentální metody, kterými jsou zkoumány vlastnosti pevných krystalických látek nebo jsou využívány pro krystalizaci ve farmaceutickém průmyslu a jsou využity v této práci.

Praktická část podrobně popisuje podmínky provedených experimentů, popis měření a měřících podmínek při charakterizaci krystalického Nicergolinu. Krystalizační experimenty byly provedeny pomocí očkování, ultrazvukové sondy, za použití templátů Zirmil® Y a ultrazvukové průtočné cely. U všech připravených šarží byla změřena distribuce velikosti částic, analýza na obsah zbytkového rozpouštědla a obrazová analýza na skenovacím elektronovém mikroskopu. U vybraných šarží byly navíc provedeny reologické zkoušky, změřena povrchová energie a tyto vybrané šarže byly podrobeny analýze na mikroskopu atomárních sil.

Výsledky jednotlivých experimentů ukazují, že podmínky, jako například množství očkovacího materiálu, doba iniciace nukleace ultrazvukem nebo velikost templátů zásadně ovlivňují vlastnosti získaných krystalů. V závěru práce jsou výsledky porovnány nejen mezi jednotlivými způsoby krystalizace, ale také mezi šaržemi, které byly připraveny za použití stejné krystalizační techniky.

Příprava a následná charakterizace probíhala na špičkově vybavených a specializovaných pracovištích a odpovídají současným požadavkům správné výrobní praxe.

Klíčová slova: aktivní farmaceutická látka, Nicergolin, očkování, sekundární nukleace, templáty, ultrazvuk.

ABSTRACT

The diploma thesis is focused on the discovery of physical and physical-chemical properties of Nicergoline. The substance was prepared using various recrystallizations' processes of applying secondary nucleation.

In the theoretical part, the author describes the nucleation and put forwards mechanisms of the secondary nucleation. Here, instrumental methods are also described which are either the researched properties of solid crystalline materials or are used for crystallization in pharmaceutical industry. The instrumental methods discussed above will be utilized during the course of these experiments.

The practical part of the thesis details the conditions of experiments, including measuring and conditions of measuring during the characterization process of Nicergoline. The crystallization experiments were undertaken by the help of seeding, ultrasonic probe, ultrasonic flow cell and templates Zirmil[®] Y. For each of the prepared batches, measurements were made as per particle size distribution, analysis of acetone residue and image analysis on scanning electron microscopy. The selected batches were measured for rheology properties and surface energy. These selected batches were also submitted to undergo atomic force microscopy.

The results of the individual experiments demonstrate that the conditions such as the quantity of seeding material, time of initiations by ultrasound or the diameter of ceramic balls influence properties resulting crystals. Towards the end of the thesis results are compared with different crystallization methods and are compared among various batches uniformly.

The preparation and characterization were made at a well-equipped workplace, under a specialized environment which complied with the current good manufacturing practice requirements.

Keywords: active pharmaceutical ingredient, Nicergoline, seeding, secondary nucleation, templates, ultrasound.

Poděkování

Děkuji za ochotu, odborné rady a pomoc při řešení problematiky krystalizace aktivních farmaceutických substancí panu Ing. Romanu Gabrielovi, PhD. z oddělení výzkumu a vývoje TAPI firmy Teva Czech Industries s. r. o.

Rád bych poděkoval také vedoucímu mé diplomové práce, panu doc. Ing. Marku Večeřovi, Ph.D., že mi byl svým pohledem na věc a cennými radami nápomocen nejen při psaní diplomové práce, ale byl mi také oporou při celém průběhu studia na vysoké škole.

Za možnost vzniku této diplomové práce ve spolupráci s výrobním závodem Teva Czech Industries s. r. o. v Opavě, Komárově děkuji řediteli divize výzkumu a vývoje panu RNDr. Aleši Gavendovi, Ph.D. Děkuji také pracovníkům oddělení výzkumu a vývoje TAPI a pracovníkům oddělení Solid State za pomoc při práci v laboratoři a pomoc při měření a zpracovávání výsledků měření.

V neposlední řadě děkuji také paní Ing. Kláře Drobíkové, PhD. z Centra nanotechnologií při VŠB-TU Ostrava za naměřené a zpracované výsledky vybraných šarží z mikroskopie atomárních sil.

OBSAH

1	ÚVOD	14
2	TEORETICKÁ ČÁST	15
2.1	Krystalizace	15
2.2	Klasická nukleační teorie.....	15
2.3	Nukleace	16
2.4	Primární nukleace	17
2.5	Sekundární nukleace.....	18
2.5.1	Kontaktní nukleace.....	20
2.5.2	Nukleace smykovým tokem.....	21
2.5.3	Nukleace otěrem.....	22
2.6	Krystalizace očkováním	22
2.7	Krystalizace ultrazvukem	24
2.7.1	Kavitace.....	24
2.8	Krystalizace za pomoci templátů.....	25
2.8.1	Templáty Zirmil® Y	26
2.9	Metody pro charakterizaci pevných látek.....	27
2.9.1	Skenovací elektronová mikroskopie	27
2.9.2	Mikroskopie atomárních sil.....	28
2.9.3	Měřicí metoda FBRM	29
2.9.4	Prášková reologie	30
2.9.5	Povrchová energie	31
2.9.6	Plynová chromatografie	32
2.9.7	Laserová difrakce pro měření distribuce velikosti částic	33
3	PRAKTICKÁ ČÁST	35
3.1	Charakterizace Nicergolinu	35
3.2	Přístroje a podmínky při měření	36
3.2.1	Crystal 16	36
3.2.2	Reaktor EasyMax 102	36
3.2.3	Duplikovaný reaktor Atlas HD Crystallization.....	36
3.2.4	Ultrazvuková sonda Sonics vibra cell VC 505 – VC 750	37
3.2.5	Malvern Laser Diffraction Mastersizer 2000	37

3.2.6	Plynový chromatograf Agilent	38
3.2.7	Inverzní chromatograf	38
3.2.8	Mikroskop atomárních sil NT-MDT Next II.....	39
3.2.9	Freeman FT 4	40
3.3	Krystalizace pomocí očkování.....	40
3.3.1	Šarže DL180605-01	40
3.3.2	Šarže DL180607-01	40
3.3.3	Šarže DL180611-01	41
3.3.4	Šarže DL180614-01	41
3.3.5	Šarže DL180625-01	42
3.3.6	Šarže DL181123-01	42
3.3.7	Šarže DL181127-01	43
3.3.8	Šarže DL181206-01	43
3.4	Krystalizace pomocí ultrazvukové sondy.....	44
3.4.1	Šarže DL180618-01	44
3.4.2	Šarže DL180619-01	44
3.4.3	Šarže DL180621-01	45
3.4.4	Šarže DL181122-01	45
3.4.5	Šarže DL181203-01	46
3.5	Krystalizace pomocí ultrazvukové průtočné cely.....	46
3.5.1	Šarže DL190108-01-2	46
3.5.2	Šarže DL190110-01-2	47
3.5.3	Šarže DL190124-01-2	47
3.6	Krystalizace za pomoci keramických kuliček Zirmil [®] Y	48
3.6.1	Šarže DL180626-01	48
3.6.2	Šarže DL180905-01	48
3.6.3	Šarže DL181023-01	49
3.7	Příprava ostatních šarží.....	50
3.7.1	Šarže DL180605-03	50
3.7.2	Šarže DL180611-02	50
3.7.3	Šarže DL181122-02	50
3.7.4	Šarže DL181127-02	50
4	VÝSLEDKY.....	51

4.1	Křivka rozpustnosti.....	51
4.2	Porovnání výsledků mezi jednotlivými způsoby krystalizace.....	52
4.2.1	Výtěžek.....	53
4.2.2	Obsah zbytkového acetonu.....	53
4.2.3	Velikost distribuce částic	53
4.2.4	Tokové vlastnosti	53
4.2.5	Topografie krystalů	54
4.2.6	Distribuce velikosti částic měřená pomocí laserové sondy.....	63
4.2.7	Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu	63
4.2.8	Povrchová energie krystalů	68
4.3	Porovnání výsledků mezi šaržemi připravenými očkováním.....	70
4.4	Porovnání výsledků mezi šaržemi připravenými pomocí ultrazvuku	73
4.5	Porovnání výsledků mezi šaržemi připravenými za pomoci templátů	77
5	ZÁVĚR.....	79
6	SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK.....	81
7	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ	82
8	SEZNAM POUŽITÝCH JEDNOTEK.....	84
9	LITERATURA	85

1 ÚVOD

Krystalizace je ve farmaceutickém průmyslu stěžejní operací při výrobě API látek, tedy těch, které mají léčivý účinek na organismus. Nastavení a udržení správných krystalizačních podmínek je předpokladem pro vznik požadované polymorfní formy, velikosti krystalů, obsahu zbytkových rozpouštědel, distribuce velikosti částic a řadu dalších fyzikálních nebo fyzikálně-chemických vlastností. Diplomová práce navazuje na výsledky a závěry bakalářské práce *Optimalizace krystalizace aktivních farmaceutických substancí* [1]. V uvedené bakalářské práci bylo prokázáno, že optimalizace při krystalizaci API látek spočívá ve správném řízení, udržování a kontrolování krystalizačních podmínek.

Pro získání požadovaného krystalického materiálu se ukazuje jako vhodná cesta krystalizace, při které se uplatňuje sekundární nukleace [2]. V chemickém průmyslu se ve výrobních procesech sekundární nukleace uplatňuje velmi často [3], [4]. Jedná se o nukleaci, která probíhá díky již přítomným krystalům. Příkladem tohoto typu nukleace je nukleace pomocí očkování. Do roztoku, ze kterého je potřeba získat krystalický materiál, jsou přidány krystaly téže substance. Zajímavou technikou ve farmaceutickém průmyslu je užití ultrazvuku. Sonikace způsobuje přesycení roztoku, iniciuje primární nukleaci a nepřetržitá sonikace přispívá k sekundární nukleaci [5]. Použití ultrazvukové sondy v provozním měřítku může být z důvodu velkého reakčního objemu omezeno. V takovém případě se otevírá možnost sonikace s použitím průtočné ultrazvukové cely, která zajistí rovnoměrnou sonikaci v celém reakčním objemu. Zvláštním případem sekundární nukleace je krystalizace na templátech [6]. Pro krystalizaci na templátech byly použity zirkoniové kuličky Zirmil® Y různých průměrů.

I u sekundární krystalizace je pro vznik nové fáze s definovanými fyzikálně-chemickými vlastnostmi potřeba udržet správné krystalizační podmínky, jakými jsou zejména teplota, množství očkovacího materiálu, doba iniciace nukleace a jiné.

Práce si klade za cíle popsat vlivy, které mají za následek odlišné fyzikální a fyzikálně-chemické vlastnosti krystalických látek při sekundární nukleaci a prokázat, že i malé odlišnosti krystalizačních podmínek při stejných způsobech krystalizace vedou k různorodosti krystalického materiálu. V neposlední řadě má ověřit, že i relativně nově objevené způsoby krystalizace, jako např. ultrazvuková průtočná cela, jsou v praxi dobře použitelné a jimi připravený krystalický materiál může vykazovat očekávané vlastnosti. Součástí cílů je také popis jednotlivých analýz používaných při charakterizaci pevných látek ve farmaceutickém průmyslu.

2 TEORETICKÁ ČÁST

2.1 Krystalizace

Krystalizace z roztoku je čistící a separační technikou, při které se pevná fáze odděluje od matečného louhu. [7] Je kritickým procesem především ve farmaceutickém průmyslu. Skládá se ze dvou kroků – nukleace a růstu krystalů [8]. Při krystalizaci hraje významnou roli několik faktorů, které ovlivňují vlastnosti vzniklého krystalického materiálu. Patří mezi ně například teplota, rychlost míchání [3], rozpouštědlo [3], velikost očkovacího materiálu [3], druh antisolventu [3] a celkový způsob provedení krystalizace [1].

Krystalizační proces zahrnuje dva hlavní kroky – nukleaci a růst krystalů [3].

2.2 Klasická nukleační teorie

Tvorba krystalů je fázový přechod prvního řádu. Je charakterizována nenulovým latentním teplem – krystalizační entalpií $\Delta H_{cryst.}^{\circ}$. Více významný je druhý znak přechodu prvního řádu – diskontinuita koncentrace u fázového rozhraní. V důsledku této diskontinuity je na rozhraní rozpouštědlo – krystal nulová povrchová volná energie. Jestliže se vytvoří malá částice kondenzované fáze v přesyceném roztoku, povrchová volná energie působí na proces nově vznikající fáze nepříznivě. Proto jen omezený počet zárodků kondenzované fáze dokáže překonat bariéru volné energie. První krok vytváření nové fáze, kdy je kinetika limitována touto bariérou, se nazývá nukleace. [8]

Termodynamickou část klasické nukleační teorie popsal J. W. Gibbs [9]. Uvažujme nově vznikající krystal krychlového tvaru s hranou a . V přesyceném roztoku, ve kterém je chemický potenciál (μ_{roztok}) větší než chemický potenciál molekuly v zárodečném krystalu ($\mu_{krystal}$)

$$\Delta\mu = \mu_{roztok} - \mu_{krystal} > 0, \quad (1)$$

vede vytváření takového zárodečného klastru ke ztrátě volné energie $-n\Delta\mu$. Naproti tomu, vytváření fázového rozhraní s povrchem (S_P) a povrchovou energií (α) mezi klastrem a pevným povrchem vede ke zvýšení volné energie. Za předpokladu krystalových klastrů (zárodků) krychlového tvaru se potom celkový povrch bude rovnat

$$S_P = 6a^2n^{2/3}, \quad (2)$$

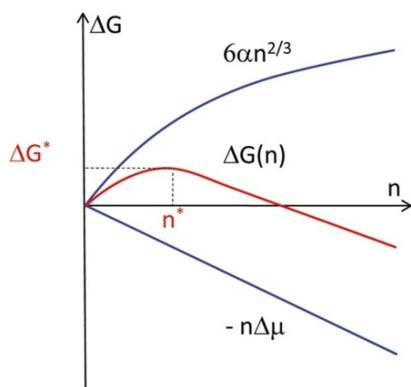
kde se bude velikost povrchu $6a^2$ lišit podle tvaru krystalu, ale výraz $n^{2/3}$ zůstane pro všechny trojrozměrné klastry stejný. [8] Tím pádem

$$\Delta G(n) = -n\Delta\mu + 6a^2n^{2/3} \propto. \quad (3)$$

Rozlišuje se $\Delta G(n)$, které náleží klastru o velikosti n^* a prochází maximem $\Delta G^*(n)$

$$n^* = 64\Omega^2 \propto^3 / \Delta\mu^3 \text{ a } \Delta G^* 32\Omega^2 \propto^3 / \Delta\mu^2 = 1/2 n^* \Delta\mu, \quad (4), (5)$$

kde $\Omega = a^3$ a je to objem, který zaujímá molekula v krystalu. Jak ilustruje *Obrázek 1*, ΔG^* je bariéra, která musí být překonána pro vytvoření krystalu z roztoku [8].



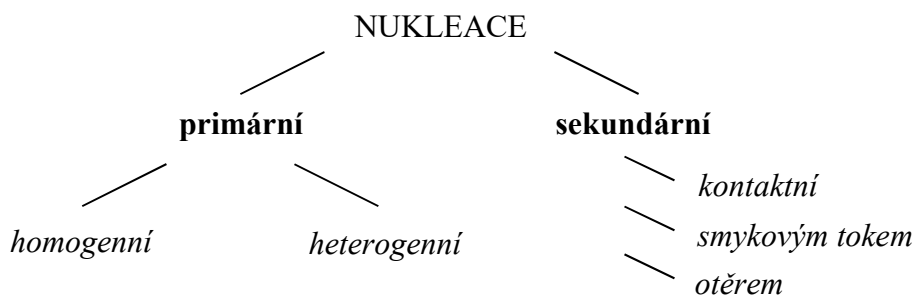
*Obrázek 1: Termodynamický efekt na tvorbu krystalů; n – počet molekul v krystalickém zárodku; $\Delta\mu$ - přesycení roztoku; ΔG – volná energie; * značí kritický zárodek [8]*

Růst menších klastrů než n^* je spojen se zvyšováním volné energie a je nepříznivý. Jestliže výsledkem fluktuace dosáhnou klastry velikosti větší, než n^* , je růst doprovázen snižováním volné energie. Klastry o velikosti n^* mají stejnou pravděpodobnost růstu i rozpadnutí se a proto jsou takové klastry nazývány klastry (zárodky) s kritickou velikostí a představují nuklea nové fáze. [8]

2.3 Nukleace

Nukleace předchází růstu krystalů a je začátkem nové fáze. Tohle platí zejména pro krystalizace z roztoků, což je nezbytná část procesu v chemickém průmyslu a hlavní krok fyziologických jevů [10].

Přesycený nebo podchlazený roztok není sám o sobě schopen začít krystalizovat [11]. Než se začnou vyvíjet krystaly, musí být v roztoku nuklea, která působí jako centra krystalizace. Nukleace může nastat spontánně nebo může být vyvolána uměle jako například mícháním, mechanickým nárazem nebo třením [11]. Dělí se do dvou skupin – **primární** a **sekundární**. Někdy však není možné určit, zda bude systém krystalizovat sám o sobě nebo pod vlivem vnějšího podnětu [11].



Obrázek 2: Rozdělení nukleace

Primární nukleace	– nukleace z čistého roztoku
<i>homogenní</i>	– nukleace z čistého roztoku bez přítomnosti nečistot
<i>heterogenní</i>	– krystaly se začnou tvořit za přítomnosti cizích částic, na stěnách nádoby, na míchadle apod.; tato nukleace překonává menší energetickou bariéru [11]
Sekundární nukleace	– vzniká již za přítomnosti vlastních krystalů v roztoku

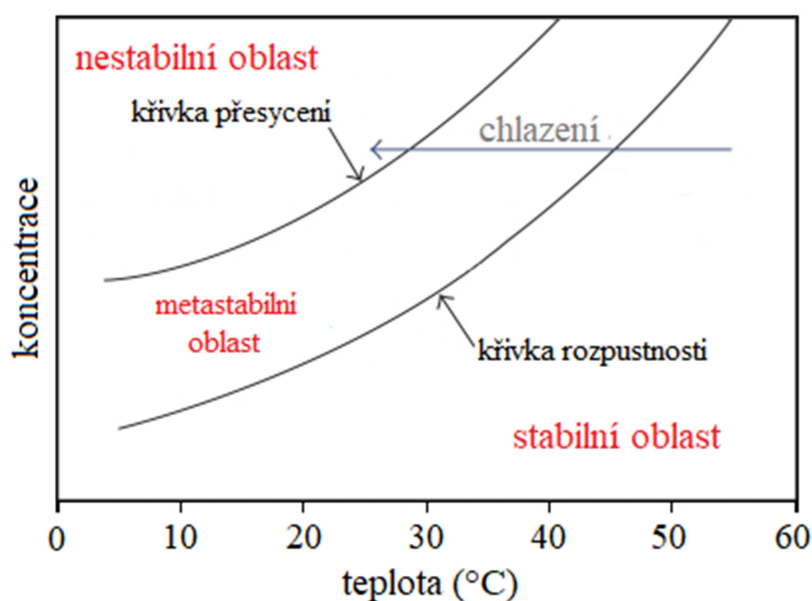
2.4 Primární nukleace

Primární nukleace nastává v prostředí, kde se nenacházejí žádné krystaly dané látky. Primární nukleace je dosaženo, pokud se roztok posouvá do nestabilní oblasti (viz *Obrázek 3*). Toho lze dosáhnout zvyšováním koncentrace, snižováním teploty nebo snižováním teploty a zároveň zvyšováním koncentrace roztoku. Ve farmaceutickém průmyslu se nejčastěji API látky získávají z přesycených roztoků [3]. Rozpuštěné molekuly, které jsou nahodile rozmístěny v roztoku, se začnou formovat do vnitřně uspořádaných krystalických tvarů. Primární nukleace je dělena na homogenní, kdy se krystaly vytvářejí spontánně v čistém roztoku bez nečistot, a heterogenní. Při heterogenní nukleaci se krystaly tvoří přednostně na povrchu přítomné fáze – mohou to být cizí částice, povrch krystalizátoru, povrch míchadla apod. [3]. Heterogenní nukleace je energeticky méně náročná, protože k tvorbě krystalu

dochází na povrchu pevných fází a k vytvoření krystalu není potřeba tolik atomů, jako u homogenní nukleace [3].

2.5 Sekundární nukleace

Sekundární nukleace je každá, která probíhá již za přítomnosti nukleačních jader dané látky, která se již vytvořila nebo byla do roztoku úmyslně přidána [11]. Jádra jsou krystalická, nebo tvořena z vrstvy roztoku přilehlého k povrchu. Nejdůležitějším zdrojem nukleí, vytvářených v krystalizační suspenzi, je přesunutí rozpuštěné látky blízko povrchu ještě nevytvořeného krystalu. Teorie ECSN (Embryo Coagulation Secondary Crystallization) vysvětluje, jak může být dosaženo této kritické velikosti v blízkosti hranice krystalu. Podle této teorie jsou rozpuštěné zárodky, přítomné v přesyceném roztoku, přitahovány pomocí van der Waalsových sil k očkovanému krystalu. Vysoká koncentrace těchto zárodků v blízkosti krystalů vede k rychlé koagulaci, což následně vede k tvorbě jader větších, než je kritická velikost. [4]



Obrázek 3: Křivka rozpustnosti [14]; upraveno

Qian & Botsaris (1997) [12] zkoumali nukleaci chirální molekuly (chlorečnanu sodného) v míchaném a statickém roztoku s přidáním (naočkováním) jednoho krystalu. Jakmile dosáhlo přesycení roztoku určitého limitu, ale nižšího, než je potřeba k spontánní primární nukleaci, začala se tvořit nuklea opačné chiralitý přidaného krystalu. To naznačuje, že roztok okolo matečného krystalu, který obsahuje zárodky obou chiralit, byl zdrojem sekundárních krystalů. Výsledky byly vysvětleny na základě modelu ECSN, který

předpovídá, že vzhledem k povaze van der Waalových sil bude i zárodek opačné chiralidy přitahován přítomným (naočkovaným) krystalem za vzniku krystalů opačné chiralidy (koagulace). Bylo zjištěno, že při nižší míře přesycení mají všechna vytvářející se nuklea stejnou chiralitu, jako naočkovaný krystal. Předpokládalo se, že mechanismus ECSN není účinný při nižších koncentracích způsobených nízkou koncentrací velkých zárodků v celkovém objemu. Buď očkovaný krystal způsobuje vznik zárodku při jeho samotném vpravení do roztoku (naočkování), nebo v důsledku mikro tření při smykové deformaci matečného roztoku. Nikdy to ale nebylo prokázáno. [4], [12]

Sekundární nukleace probíhá zřejmě v důsledku několika faktorů [11]. Mezi faktory může patřit například dislokace extrémně malých krystalů z povrchu větších krystalů, odlomení částí krystalů, které do sebe vzájemně narážejí nebo odlomení krystalů, které narazí do stěn nádoby nebo jsou mechanicky namáhány míchadlem [11]. Takové případy nastávají, pokud je koncentrace krystalů v suspenzi vysoká, nebo pokud se míchadlo v reaktoru otáčí velkou rychlostí a nárazy do krystalů způsobí rozbití krystalů nebo odlomení jejich částí. Sekundární nukleace není žádným novým objevem. Již na začátku dvacátého století bylo sledováno, že mírně přesycené roztoky, začaly nukleovat až po přidání zárodků krystalů [11]. Tento proces se nazývá očkování a jsou při něm do roztoku zaváděny krystaly stejné substance, která má vykrystalovat [3]. [3], [11]

Rychlost růstu nového krystalu v přesyceném roztoku je vyjádřena touto empirickou rovnicí:

$$B_V = K_N(C - C^*)^b. \quad (6)$$

B_V ... rychlost růstu nukleace za jednotku času,

K_N ... konstanta růstu nukleace,

C ... koncentrace roztoku,

C^* ... rozpustnost látky při teplotě daného roztoku a

b ... řád reakce [13]

K_N a b záleží na fyzikálních vlastnostech systému, jako teplota, přítomnost nečistot a procesní podmínky jako například intenzita míchání [16]. V systémech, kde sekundární nukleace hraje klíčovou roli, záleží K_N na koncentraci krystalů v suspenzi. B značí počet nukleí tvořených za jednotku času a má rozměr T^{-1} . Může mít také objemový rozměr s jednotkou $m^3.T^{-1}$. Hnací silou nukleace je míra přesycení, značená rozdílem $C - C^*$. [13], [16]

2.5.1 Kontaktní nukleace

Kontaktní nukleace (také kolizní nukleace) má v dnešní době velký význam. Tento jev byl poprvé představen v práci Lal, Mason a Strickland-Constable [17]. Ti pozorovali, jak krystal, který byl vložen do přesyceného roztoku a sklouzl po stěně nádoby, tvoří mnohokrát více sekundárních krystalů, než krystal, který byl umístěn volně v roztoku. Clontz a McCabe použili [18] poněkud více rafinovanou techniku pro studování kontaktní nukleace. Krystal heptahydrátu síranu hořečnatého poklepávali definovanou energií malou tyčinkou. Obě práce uváděly kontaktní nukleaci jako takovou, která produkuje mnohem více nukleí než ostatní typy nukleací. Ovšem mechanismus, kterým tyto krystaly vznikají, nebyl jasný. Clontz a McCabe navrhli [18], že sekundární jádra nepocházela přímo z očkovaného krystalu, ale byla vytvořena blízko krystalického povrchu rozpuštěnými molekulami, které byly už obsaženy v roztoku, ale ještě nebyly začleněny do rostoucího krystalu. Tým Strickland-Constable na druhou stranu tvrdil [17], že závislost krystalizačního růstu na přesycenosti roztoku ukazuje jednu ze dvou věcí. Buď byla jádra tvořena blízko povrchu krystalu, nebo pocházela z otěru očkovacího krystalu. Navrhl tzv. „teorii přežití“, která říká, že nuklea, které pocházejí z otěru dalších krystalů, budou mít stejnou velikost jako je kritická velikost nuklea, takže by v roztoku zůstaly pouze větší krystaly. [11], [18], [19], [20]

Ačkoli výsledky podporují spíše „teorii přežití“, bylo nutné provést experimenty pro obě hypotézy vzniku sekundárních krystalů. Byly provedeny dva pokusy, při kterých byly krystaly chlorečnanu sodného ponořeny do přesycených roztoků. Protože chlorečnan sodný krystalizuje ve dvou snadno rozlišitelných enantiomorfních formách, bylo možné původ sekundárních jader rozlišit. Přístroj pro experimenty kontaktní nukleace byl tvořen kuličkou a skleněnými trubičkami. Toto zařízení bylo vloženo do baňky s přesyceným roztokem, která byla ponořena do temperovací lázně. Kovová kulička při nárazu na pružinku způsobila, že držák krystalu se pohyboval směrem dolů, dokud se nedotkl krystalu. Před každým novým pokusem byl očkovací krystal dvakrát promyt v destilované vodě, aby se zamezilo růstu krystalů na úlomcích krystalu. Po nárazu kovové tyčinky na krystal byl kontaktní systém odstraněn, baňka byla uzavřena a ponechána krystalizaci po dobu, kdy vznikly krystaly natolik velké, aby se daly analyzovat v polarimetru. Oproti tomu byly provedeny slepé pokusy bez přítomnosti krystalu nebo s krystalem ze skla, nebo s krystalem síranu hořečnatého, ale bez poklepu. [19], [18]

Z experimentů vyplynulo, že kontaktní nukleace zahrnuje i proces otěru, kdy jsou z povrchu krystalu štěpeny malé kousky [18]. Bylo pozorováno, že téměř všechny nově

vytvořené krystaly měly stejnou strukturu jako matečný krystal a také to, že počet vytvořených krystalů je funkcí kontaktní energie. Počet vzniklých krystalů ovšem nebyl závislý na rychlosti proudění kapaliny. Existuje také závislost počtu vzniklých sekundárních krystalů na přesycení. Ukazuje se, že závislost počtu sekundárních zárodků na přesycenosti nastává ze dvou důvodů. Kvůli přesycení se zvyšuje počet původně vytvořených zárodků a zároveň se zvyšuje procento zárodků, které nezaniknou, protože jejich velikost je větší než kritická velikost zárodku. Druhý důvod představuje základ Strickland-Constablesovy „teorie přežití“ [21]. [19], [18]

2.5.2 Nukleace smykovým tokem

Klasická nukleační teorie přináší pochopení nukleace pro stav, kdy jsou nuklea a roztok v klidu. Nukleace ovšem v mnoha případech probíhá v roztocích a je ovlivněna neustále se pohybující proudící kapalinou. Nukleace smykovým tokem by mohla hrát zásadní roli v biologických vědách při krystalizaci a agregaci proteinů nebo peptidů, protože tyto děje probíhají při cytoplazmatickém toku. Na druhou stranu jde i v průmyslém měřítku o nejčastější jev, jelikož toky kapalin jsou v průmyslových zařízeních velmi časté [2]. Obvykle probíhají krystalizační procesy v míchaných nádobách a způsob míchání se v různých nádobách liší a je ovlivněn několika faktory – typem míchadla, umístěním, rychlostí míchání, tvarem nádoby apod. [22]. Z toho vyplývá také odlišná kvalita míchání. Míchané nádoby nejsou vždy dobře promíchávány a stejnoměrnost míchání s rostoucími rozměry nádoby klesá. Z důvodu nestejnoměrného míchání vznikají gradienty rychlostí proudící kapaliny a tato nehomogenita má za následek náhodné rozložení smykových napětí kapaliny v nádobě. [22]

Důležitou charakteristikou pro nukleační procesy je šířka metastabilní zóny. Dynamika proudění roztoků šířku metastabilní zóny ovlivňuje a je proto klíčovým procesem při krystalizaci [22].

Vzhledem ke klíčové roli nukleace při mnoha procesech bylo prováděno několik experimentů a simulací. Zatímco některé výsledky ukazují, že nukleace smykovým tokem zvyšuje míru nukleace, některé tvrdí opak [22]. Simulace provedené japonským fyzikem Yukawou ukázaly, že nukleační bariéra se kvadraticky zvyšuje s rychlostí smykového toku, ale celkový efekt na nukleační rychlost sledován nebyl [23]. Novější simulace umožnily vytvořit závislost maximální nukleační rychlosti na rychlosti smykového toku [15], [16]. Simulace nejsou předmětem této práce, a proto jim už dále není věnována pozornost.

2.5.3 Nukleace otěrem

Zdrojem krystalů, které jsou přítomny v roztoku při krystalizačních procesech a způsobují iniciaci sekundární nukleace, není pouze zavedený očkovací materiál. Při krystalizačních procesech, probíhajících v míchaných nádobách dochází ke vzájemným kolizím a srážkám – krystalů mezi sebou nebo ke srážkám mezi míchadlem, stěnou nádoby a krystaly. Zlomky krystalů, pocházející z otěru nebo srážek, dávají vzniknout sekundární nukleaci a tedy dalším krystalům. Postupně vznikající krystaly jsou následně také zdrojem pro sekundární nukleaci. [24]

Části krystalů, pocházející z otěrů a vzájemných srážek, hrají důležitou roli především při konstruování a obsluze krystalizátorů. A to ze dvou důvodů. Když tato nuklea, vzniklá otěrem, rostou v přesyceném roztoku, jsou sekundárními nuklei a mají vliv na konečnou distribuci částic. Druhým důvodem je mechanická míra opotřebení krystalu (G_a), která je inverzní ke kinetickému růstu krystalu (G_r). To má za následek, že krystal může růst rychlostí, která je dána rozdílem kinetického růstu a opotřebení. [25]

$$G_{ef.} = G_r - G_a \quad (7)$$

Je kladen důraz na konstrukci krystalizátorů, míchadel a rychlost míchání. To vše může vést k ovlivnění distribuce velikosti částic. Je třeba zmínit, že odlišnosti se budou vyskytovat v jednotlivých systémech. S mírou otěru částic souvisí i další veličiny, jako například objem částic, které byly získány otěrem [25], viskozita roztoku [25] nebo rozdíl hustot krystalků a krystalizačního roztoku [24], [25].

2.6 Krystalizace očkováním

Speciálním případem sekundární nukleace je očkování. Do roztoku se zavádějí krystaly (tzv. očka nebo také očkovací materiál) dané látky, která má být vykrystalována. Je tím dosaženo kontrolovatelné rychlosti nukleace a záruky reprodukovatelnosti šarží. [3], [11]

Při očkování nukleaci je ale nutné znát správné množství oček a správnou dobu pro získání žádaného polymorfu. Tyto informace lze zjistit z laboratorních experimentů, které předcházejí krystalizačním procesům výrobního měřítka. Pro správné množství očkovacího materiálu byla empiricky stanovena hmotnostní bilance, která konstatuje, že téměř veškerá

hmota naroste na vložených očkách: tzn., že sekundární nukleace během procesu prakticky neprobíhá. [3]

$$L_P/L_S = (M_P/M_S)^{1/3} \quad (8)$$

L_S ... velikost oček

L_P ... velikost krystalů produktu

M_P ... hmotnost produktu

M_S ... hmotnost oček

Množství přidaných oček se definuje:

- špetka – málokdy je toto množství uspokojivé při použití ve větším měřítku, hrozí totiž rozpuštění takto malého množství očkovacího materiálu
- malé (<1 hm%) – lépe kontrolovatelné množství, přesto ale pro provozní měřítko ne zcela vhodné, je obtížné dosáhnout dalšího růstu krystalů
- velké (5 – 10 hm%) – zvýšená pravděpodobnost růstu krystalů
- masivní (>10 hm%) – maximální schopnost pro růst krystalů [1], [26]

Oček se většinou přidává maximálně do 10 hm% výtěžku, což však v průmyslovém měřítku může představovat i několik desítek kilogramů. Doporučuje se očka přidávat v ¼ až ½ šířky metastabilní oblasti ve směru od rovnovážné křivky rozpustnosti (viz *Obrázek 3*) [3]. Nejlépe ve formě krystalické kaše, ve které jsou očka „aktivována“ [3]. Kaše se obvykle skládá z krystalků a rozpouštědla, které se nachází v roztoku, ze kterého má být krystalováno. Nejlepším způsobem je očkování pomocí čerstvě vykrystalovaných oček. To je však mnohdy nesnadný úkol, především při první krystalizaci, protože většinou se používají očka oddělená z předchozí šarže. Jedním ze způsobu, jak získat očka je možnost krystalizace v laboratorním měřítku nebo extrakce z tablet konkurence. [3], [26]

Pro úspěšnou krystalizaci je důležité, aby krystaly vytvářely s roztokem suspenzi, která by měla být neustále promíchávána [3]. Zamezí se tím klesání krystalů na dno krystalizátoru a následného shlukování a vzniku agregátů. Problém s agregací se promítá do následujících kroků výroby. Agregáty je nutné mlít, mikronizovat, sítovat a proto je třeba se jim vyhnout. [3]

Jedním z dalších sledovaných parametrů je velikost krystalů během krystalizace. Pokud jsou krystaly příliš velké, dochází k jejich odírání a ke vzniku mikrokrystalického

prachu, na kterém může docházet k další, třeba i nežádoucí krystalizaci [3]. Kvalitu krystalů ovlivňuje geometrie a typ krystalizátoru, hydrodynamické podmínky během krystalizačního procesu – jako je rychlost míchání [16], tvar míchadla [3], umístění míchadla [3] apod.

Mezi sledované parametry vzniklých krystalů se řadí také tvar (habit). Tvar krystalů určuje důležité mechanické vlastnosti, jako jsou sypná hustota, filtrovatelnost, mikronizovatelnost, tokové vlastnosti aj. Tvar krystalů lze ovlivnit použitým rozpouštědlem nebo směsí rozpouštědel. I obsah vody v rozpouštědle hraje roli při vytváření tvarů krystalů [3]. Rozpouštědla se třídí do skupin dle příbuznosti (např. polarita, dipólového momentu, viskozity, bodu varu, hustoty povrchového napětí), což napomáhá při vytváření příslušného habitu krystalů. Pro ovlivnění tvaru se do roztoků přidávají aditiva, která se přednostně adsorbují na určité plochy a tím blokují jejich růstovou rychlost. [3]

2.7 Krystalizace ultrazvukem

Jednou z možností iniciace nukleace je použití ultrazvuku [26]. Ultrazvuk řadíme do oblasti akustiky a jeho frekvenční rozsah leží nad hranicí 20 kHz. Účinky ultrazvuku záleží na vlastnostech prostředí, kterým se šíří, na amplitudě (tedy intenzitě) a frekvenci kmitů [27]. Ultrazvuk můžeme rozdělit do dvou základních skupin – aktivní a pasivní ultrazvuk. Hlavní charakteristikou aktivního ultrazvuku je vyvolání fyzikálních nebo chemických změn v daném prostředí. Na druhou stranu pasivní ultrazvuk se využívá pro měřicí a kontrolní analýzy (jako diagnostický ultrazvuk) bez chemických a fyzikálních změn daného prostředí. [28]

Praktické využití má při iniciaci nukleace aktivní ultrazvuk. Ten obvykle pracuje s intenzitami vyššími než 50 W.cm^{-2} [27]. Výkon ultrazvuku je charakterizován velmi vysokými opakujícími se rychlostmi s velkým zrychlením (až 10^5 g) při amplitudách v rozmezí 50 – 70 mm. Užití ultrazvuku zajišťuje maximální výtěžnost, zkrácení procesního času a zajistí jednotnou velikost a tvar krystalů, zamezuje tvorbě aglomerátů. [27], [29]

2.7.1 Kavitace

Kavitace je soubor jevů, který souvisí se vznikem, růstem, oscilacemi a zánikem bublin v kapalině. Příčinou těchto dějů je působení ultrazvukových vln na kapalinu a je průvodním jevem působení ultrazvuku [27]. V lokálních místech dochází k opakovanému

zhušťování a zředování kapaliny a při poklesu tlaku dochází v určitých místech kapaliny ke vzniku parních bublinek [27].

Kavitace se objeví po překročení kavitačního prahu. Ten nastává ve chvíli, kdy amplituda budící akustické vlny dosáhne určité hodnoty. Ultrazvuková sonda musí mít pro překročení kavitačního prahu dostatečný výkon. Výkon však lze zvyšovat pouze omezeně, protože se při určité hranici neprojeví nárůstem výkonu dodávaného do kapaliny, ale kavitací. Při kavitaci není kapalina, která je v kontaktu se zářičem (sonifikátorem), schopna jeho povrch sledovat. Pohybuje se zrychlením od povrchu zářiče, dojde k jejímu odtržení a mezi povrchem zářiče a kapalinou vznikají bubliny. Shluk vzniklých bublin brání přenosu akustických vln do kapaliny. V nejbližším okolí bublin dochází po dobu nanosekund k lokálnímu nárůstu teploty až na 3000 °C a nárůstu tlaku o velikosti až stovek MPa. [27]

Kavitace tedy způsobuje v podchlazené tekutině tvorbu nukleí. Hunt a Jakson (1966) experimentovali s novou krystalizační technikou a zjistili, že při zhroucení vzniklé dutiny vznikne nukleum [11]. Zhroucení dutiny dojde k lokálnímu extrémnímu zvýšení tlaku, které vede k lokálnímu snížení teploty a vytvoření nuklea. [11]

2.8 Krystalizace za pomoci templátů

Zvláštním případem sekundární nukleace je nukleace za pomoci templátů. Těmito templáty jsou většinou kuličky různých průměrů vyrobeny z oxidů - například ZrO_2 , TiO_2 , TiO_2-SiO_2 . Tyto templáty jsou přidávány do krystalizační směsi. Pokusy, které byly s templáty prováděny v minulosti prokázaly nejen to, že templáty nukleaci zlepšují, ale ovlivňují také tvar a velikost krystalů [6], [30].

Roztok je přesycený, pokud jeho koncentrace přesáhne koncentraci rozpustnosti. Podle klasické nukleační teorie je nukleační rychlost (J) rychlostí, která je vyjádřena jako funkce přesycení.

$$J(S) = ASexp(-B/\ln^2 S) \quad (9)$$

J	... nukleační rychlost (počet jader/jednotka času)
A	... kinetický parametr úměrný počtu nukleačních jader
B	... termodynamický parametr související s nukleační prací nutnou ke tvorbě jádra
S	... míra přesycení

[6]

Z teorie primární homogenní a heterogenní nukleace vyplývá, že termodynamický parametr při heterogenní nukleaci B_{HEN} je menší, než parametr při primární homogenní

nukleaci B_{HON} . Stejně se chová i kinetický parametr při heterogenní nukleaci A_{HEN} , který je menší, než kinetický parametr při homogenní nukleaci A_{HON} . Zatímco kinetický parametr A_{HEN} a termodynamický parametr B_{HEN} jsou menší než parametry A_{HON} a B_{HON} , efekt templátů může zvyšovat parametr A a snižovat parametr B oproti parametrům při heterogenní nukleaci. To znamená, že přidání templátů při nízkých přesyceních by měly zvýšit míru nukleace ve srovnání se situací, kdy templáty nejsou do roztoku přidány. [6]

Indukční čas je definován jako čas, který uběhl do doby, než se začnou tvořit detekovatelné krystaly při konstantním přesycení roztoku. Je to tedy funkce nukleace i růstu krystalů. Rychlejší nukleace a růst krystalů má nižší hodnoty indukčního času – malý indukční čas ukazuje rychlý krystalizační proces. Indukční čas se tedy jeví jako užitečný nástroj pro pozorování vlivu templátů na krystalizaci. [6]

2.8.1 Templáty Zirmil[®] Y

Výrobcem těchto templátů je firma Saint-Gobain ZirPro[®], která je předním výrobcem nejvyšší kvality keramických materiálů a mezi hlavní odběratelé se řadí několik zemí v Evropě, včetně České republiky.

Keramické kuličky Zirmil[®] Y jsou vyrobeny z unikátního oxidu křemičitého dopovaného yttriem. Tyto kuličky jsou vyráběny v různých průměrech od 0,1 do 2,3 mm. Skládají se z 93% ZrO_2 , 5% Y_2O_3 a 2% dalších, výrobcem nespecifikovaných látek. Hustota materiálu kuliček je 6 g.cm^{-3} , sypná hustota $3,7 \text{ kg.l}^{-1}$ a tvrdost dle Vickerse je uváděna 1250 HV1. [31]

2.9 Metody pro charakterizaci pevných látek

V této kapitole jsou uvedeny užité metody při charakterizaci Nicergolinu. Skenovací elektronová mikroskopie pro zjištění tvaru, přibližné velikosti a pozorování agregátů. Mikroskopie atomárních sil ke zjištění drsnosti povrchu. Pomocí optických metod byly zjištěny velikosti krystalů a jednotlivé frakce. Prášková reologie poskytla informace o chování krystalického materiálu při toku v potrubí. Množství zbytkového acetonu demonstruje plynová chromatografie.

2.9.1 Skenovací elektronová mikroskopie

Mikroskopie krystalického materiálu dává ve farmacii potřebné informace o přibližné velikosti krystalů, tvorbě agregátů a tvarech jednotlivých krystalů. Pro větší rozlišení se běžně užívá skenovací elektronová mikroskopie (*Scanning Electron Microscope*).

Vysokoenergetický elektronový paprsek skenuje povrchu vzorku, který je obvykle potažen tenkou vrstvou zlata nebo platiny pro zvětšení kontrastu a poměru signálu k šumu. Proud záporně nabitých elektronů je přitahován anodou. Ta elektrony díky opačnému náboji urychluje a současně zakřivuje jejich trajektorii. Elektronová optika je konstruována tak, aby elektrony přenášený elektrický proud byl maximální a současně, aby byly elektrony fokusovány na co nejmenší plochu na vzorku. Všechny elektrony svazku by měly mít stejnou energii. Celá měřicí aparatura je vyevakuovaná, protože interakce elektronů s jinými částicemi by vedla k adsorpci a rozptýlu záření jinými atomy. Mohlo by dojít také k poškození katody a v přítomnosti dalších částic by se mohl kontaminovat vzorek. [32], [33]

Při skenování dochází k interakci mezi elektronovým paprskem a vzorkem a dochází k různým typům elektronových signálů emitovaných na povrchu vzorku nebo v jejich blízkosti. Tyto elektrické signály jsou sbírány, zpracovávány a nakonec převedeny jako pixely na monitor počítače jako trojrozměrný obraz povrchu vzorku. Nejběžnějším signálem jsou sekundární elektrony s nízkou energií, excitované z povrchu vzorku. Vysokoenergetické zpětně rozptýlené elektrony a rentgenové paprsky jsou emitovány zpod povrchu vzorku a poskytují informace o složení vzorku. [32]

Mezi hlavní části rastrovacího elektronového mikroskopu, jak se také někdy nazývá, patří zdroj elektronů (tryska, dělo), anoda, elektromagnetické čočky, objektiv se skenovacími cívkami, detektor BSE (zpětně odražených elektronů), detektor RTG (rentgenového záření), detektor SE (sekundárních elektronů), pohyblivý stolek se vzorkem a počítač. Nejčastějším zdrojem elektronů je katoda wolframová, LaB₆, Schottkyho emisní nebo také autoemisní zdroj. [34]

2.9.2 Mikroskopie atomárních sil

Mikroskopie atomárních sil (*Atomic Force Microscopy*) spadá do oblasti nanoskopie. Při této metodě se využívá sil atomárního původu, které působí mezi atomy hrotu a vzorku. Tyto síly mohou být blízko i dalekosáhlé. Při měření se tenký hrot pohybuje nad vzorkem nebo je se vzorkem v kontaktu a může být přitahován nebo odpuzován. Princip metody spočívá právě v interakci ostrého hrotu se vzorkem. Hrot je kolmo umístěn na nosníku, který je pružný a svým ohybem zprostředkovává velikost interakce. [34]

Síly, působící mezi vzorkem a hrotem, jsou následující:

- van der Waalsovy síly – mají elektromagnetickou podstatu, působí vždy
- odpudivé síly krátkého dosahu – vychází z Pauliho principu a z coulombovského odpuzování mezi jádry atomu, fyziosorpce, chemisorpce, plastické deformace, tření, elastické deformace, kovová adheze
- dalekosáhlé síly – magnetické a elektrostatické
- kapilární síly – ty vznikají buď z přítomných kapek, nebo hrot působí jako zárodek kondenzace kapaliny [34]

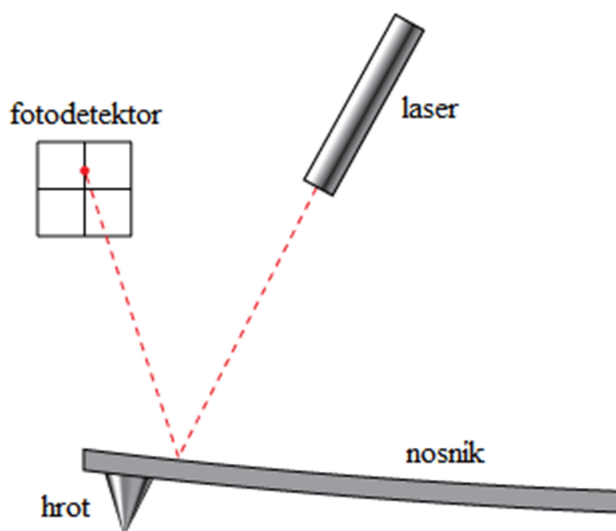
Poklepový režim (*semicontact, tapping mode*):

Jedná se o kombinaci kontaktního a bezkontaktního režimu. V tomto režimu je použito kmitání s takovou amplitudou, že dochází pouze na krátkému dotyku skenovacího hrotu se vzorkem. Při zajištění laterálního pohybu hrotu pouze ve chvíli, kdy se nachází nad vzorkem, nedochází k poškození vzorku. Může tím být dosaženo i většího rozlišení v případě, že se hrot dotkne povrchu několikrát, než se laterálně posune. V tomto režimu měření se tak uplatňují výhody režimu kontaktního i bezkontaktního. Semikontaktní režim je vhodný pro měření krystalických práškových materiálů. [34]

Detekce ohybu:

Nejrozšířenější detektor ohybu je tvořen laserovou diodou, která vytváří skvrnu konečné velikosti, dopadající na špičku nosníku, od kterého se odráží do detektoru. Detektor je rozdělen nejčastěji na čtyři části (tzv. kvadrantní detektor). U některých detektorů je běžné automatické nastavení laseru na špičku nosníku. Některé typy přístrojů mají pouze ruční nastavení, které je kontrolováno vizuálně optickým mikroskopem a měřením proudu z detektoru. Před vlastním měřením se systém nejprve energeticky vyváží tak, aby na všechny části detektoru dopadala energie svazku rovnoměrně. V průběhu měření se mění ohyb

nosníku. Ohyb se projeví posunem odrazu, takže energie v jednotlivých kvadrantech není stejná. Lze z toho zjistit jak velikost pohybu nosníku vertikálně, tak také horizontálně (tzv. zkrut). Kromě diody a detektoru obsahuje konstrukce ještě nastavovací prvky. Těmi se svazek vyvažuje. K vystředění polohy svazku vzhledem ke svislým polovinám detektoru dochází lineárním posunem detektoru a vzhledem k vodorovným polovinám se pro nastavení používá natáčení zrcátka. [34]



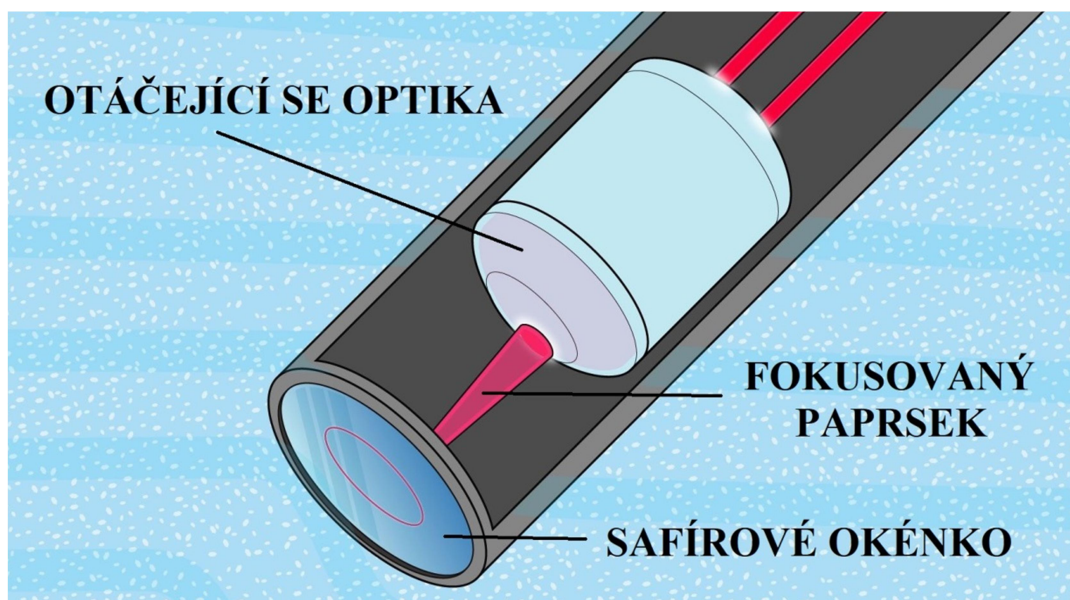
Obrázek 4: Znáznornění skenovací části mikroskopu atomárních sil [35]

2.9.3 Měřicí metoda FBRM

Analýza velikosti částic pomocí FBRM (*Focused Beam Reflectance Measurement*) je metoda založena na měření odraženého laserového paprsku vysílaného sondou. Sonda je umístěna přímo v nádobě nebo v potrubí, kde proces probíhá a výsledky se ukazují on-line, tedy v reálném čase. Odpadá tedy nutnost vzorek odebírat, zpracovávat a posléze analyzovat.

Laserový paprsek FBRM sondy, nejčastěji v náklonu 45° , je pomocí optiky zaměřen na malý bod safírového okénka. Optika se otáčí stálou rychlostí (od 2 do 6 m.s^{-1}). Fokuseovaný laserový paprsek skenuje částice, které se pohybují před safírovým okénkem sondy. Po dopadu laseru na částice se paprsek odrazí do všech směrů. Paprsek, odražený zpět k sondě, zajistí změření tzv. těťivové délky (délka mezi kterýmikoliv dvěma body částice). Takto je měřeno tisíce těťivových délek za sekundu, což zajišťuje robustní měření, které je citlivé na změnu počtu nebo rozměrů částic. Je tak hojně užívanou měřicí metodou napříč průmysly. Mezi výhody této metody jistě patří snadné použití, údržba i kalibrace.

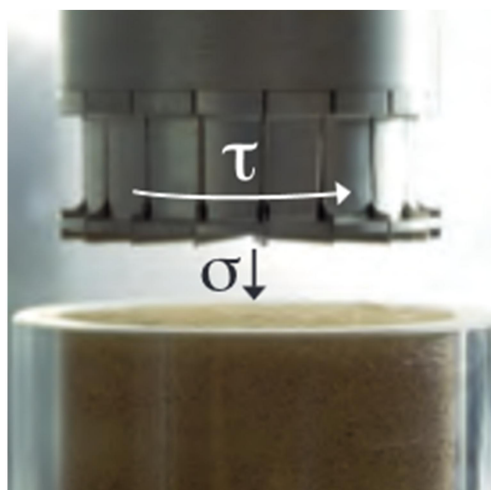
Zobrazování on-line má výhodu také v tom, že poskytuje informace o agregaci krystalů. Z výsledných grafů můžeme odhadnout, kdy dochází k agregaci. To by běžnou analýzou vykonanou až po skončení výrobního procesu nemuselo být zjištěno. On-line zobrazování může také sloužit ke sledování tvarů krystalů během krystalizace. [36], [37], [38]



Obrázek 5: Sonda FBRM [36], upraveno

2.9.4 Prášková reologie

Sledování tokových vlastností materiálu je důležité pro predikci chování při výrobních operacích, jako jsou mletí, mikronizace, míchání, sítování, sušení, transport potrubím a lisování. Např. dávkování a tím i farmakologický účinek léčiva jsou závislé na dávkování prášku do lisovací matrice před samotným lisováním. Je třeba zajistit rovnoměrné rozložení API látky v léčivech, a proto je nutné tokové vlastnosti sledovat a optimalizovat. [39]



Obrázek 6: Nástavec pro měření
Shear cell testu

Tokové vlastnosti byly v minulosti zkoumány vlivem gravitačního zatížení. Jako první se tímto problémem začal zabývat Train (1958) [39], který objevil metody pro měření úhlu mezi podložkou a nasýpaným práškem. Byl definován úhel, který svírala pracovní deska se stěnou

kužele, který vznikl nasypáním prášku a dle velikosti úhlu určena charakteristika tečení. [39], [40]

V současnosti je velmi rozšířeno měření smykem, kdy je práškový materiál vložen do celý válcového tvaru. Měření probíhá tak, že se vzorek nejprve konsoliduje. Vzorek se za normálního zatížení míchá otáčením nástavců, umístěných nad celou a vzorkem. Dále se vzorek v cele pomocí speciálního nástavce k tomu určeného (viz *Obrázek 6*), smykem a pod tlakem ve vodorovném směru strhne. To vede k maximální smykové síle (τ). [39], [41]

Výsledkem měření je závislost smykového napětí (τ) na normálovém napětí (σ). Z těchto veličin se sestrojí graf s Mohrovými kružnicemi, které charakterizují rozložené napětí v konsolidovaném vzorku. Vyhodnocení probíhá softwarově a výsledkem je toková funkce – flow function (ff). [41], [42]

Schopnost tečení je charakterizována takto:

- $ff < 1$ neteče
- $1 < ff < 2$ velmi kohezivní
- $2 < ff < 4$ kohezivní
- $4 < ff < 10$ snadno tekoucí
- $ff > 10$ polétavý [41]

2.9.5 Povrchová energie

Povrchová energie práškových materiálů se zvětšuje při kontaktem s jinými materiály a to jak s pevnými tak kapalnými. Například během vlhké granulace, rozpouštění, suspendaci, potahování a dalších procesů, při kterých dochází ke kontaktům částic. Povrchová volná energie může být chápána jako energie, která je potřebná k vytvoření jednotkové plochy povrchu a skládá se z mnoha odlišných fyzikálních sil. Všechny materiály mají disperzní (nepolární) síly a většina materiálů také polární síly, jako například vodíkové vazby. Proto se povrchová energie skládá z disperzních a polárních složek. Později byly nepolární složky popsány pomocí příspěvků acidobazických (akceptor – donorové). Jsou robustnější. [43], [44]

Výsledná celková povrchová energie je dána součtem acidobazických (γ_{ac}) a disperzních složek (γ_d).

$$\gamma_t = \gamma_{ac} + \gamma_d \quad (10)$$

Pro měření povrchové energie existuje celá řada technik. Jednou z nich je měření kontaktního úhlu mezi kapkou kapaliny a pevným povrchem, na kterém je kapka umístěna. Velmi rozšířenou technikou pro měření je inverzní plynová chromatografie (*Inverse Gas Chromatography*). [45] Je velmi rozšířená pro měření povrchové energie materiálů také proto, že se pomocí ní dají měřit materiály v různých formách - filmy, vlákna, prášky, amorfni látky. [43] Instrumentálně je téměř totožná s klasickou plynovou chromatografií. Rozdíl je u kolon, které jsou podstatně kratší a rovné. Vyrobeny jsou ze skla, nerezové oceli, mědi nebo teflonu. Stacionární fázi je u inverzní plynové chromatografie měřený vzorek a mobilní fázi je inertní plyn. V případě analýzy pevných látek se do kolony vstříkuje malá koncentrace definovaného plynu nebo par těkavých látek společně s inertním nosným plynem (helium, argon, dusík), které putují vzorkem. U inverzní plynové chromatografie je pozice stacionární a mobilní fáze obrácená. Těkavá látka se nazývá „měřicí molekulou“. Pokud jde o zjištění povrchové energie vzorku, je zapotřebí sledovat retenční časy a retenční objemy mezi „měřicí molekulou“ a vzorkem, respektive interakce mezi těmito molekulami, a analyzovat povahu a rozsah těchto interakcí. [44]

2.9.6 Plynová chromatografie

Mezi jednu z mnoha metod pro charakterizaci pevných látek se ve farmaceutickém průmyslu řadí také plynová chromatografie (*Gas Chromatography*). Tato metoda hraje při charakterizaci pevných látek důležitou roli, protože vypovídá o tom, jaké množství zbytkových rozpouštědel daný materiál obsahuje. Jelikož jsou dle jednotlivých lékopisů sledovány limity pro obsah zbytkových rozpouštědel, nelze tuto metodu při charakterizaci API látek opomenout.

Jedná se o široce užívanou separační metodu, která umožňuje v jediné analýze získat informace o kompletní směsi přítomných složek. Základními jednotkami v chromatografu jsou chromatografická kolona a detektor. Kolona odděluje testovací složky a detektor zaznamenává v průtoku nosného plynu koncentrace oddělených složek. Plynová chromatografie je na tomto principu založena – na odlišných distribucích molekul složek, které jsou rozděleny mezi stacionární a mobilní fázi. Pro každou složku se mezi těmito fázemi ustanovuje dynamická rovnováha. Zplyněné složky jsou unášeny kolonou nosným plynem různými rychlostmi. Rychlost pohybu jednotlivých složek je nepřímo úměrná distribuční konstantě. Snadno sorbovatelné složky se tudíž pohybují kolonou pomaleji než složky, které se sorbují hůře. Tyto časy zdržení, tzv. retenční se vyhodnocují ve formě píků a jsou

charakteristické pro každé rozpouštědlo. Z pozice píků se zjistí kvalita a z velikosti píků kvantita. [46], [47], [48]

Celá chromatografická kolona se skládá ze zásobníku nosného inertního plynu (nejčastěji argonu, helia nebo dusíku), regulačních ventilů, průtokového regulátoru a průtokoměru nosného plynu. V termostatu je umístěný systém pro zavádění vzorku s detektorem, který může vyhodnocovat na základě koncentrace nebo hmotnostního průtoku složek v nosném plynu. Vzorek se zavádí pomocí injekční stříkačky, ovšem dnes se již používají automatická a zabudovaná zařízení pro dávkování vzorku z důvodu zajištění přesnosti. Mezi nejčastěji používané detektory se řadí plamenově-ionizační, detektor elektronového zachytu, tepelně vodivostní detektor nebo kvadrupólový analyzátor. [46], [47], [48]

2.9.7 Laserová difrakce pro měření distribuce velikosti částic

Znát velikost částic sypkého materiálu nebo velikostní zastoupení (též distribuci) je cenný ukazatel pro další zpracování a predikci dalších vlastností. Větší částice kulového tvaru budou rychleji téci než částice menší a nekulového tvaru. Naopak menší částice se budou rychleji rozpouštět, stejný počet různě velkých částic zaujímá jiný objem apod. Velikost částic je rozměrová vlastnost částice v prostoru charakterizovaná jednotkou délky. V ideálním případě obsahuje práškový materiál pouze částice stejného rozměru, ale ve skutečnosti se reálný materiál skládá z částic různých velikostí – velikostní interval. [49]

Dobrým nástrojem pro zjištění velikostní distribuce částic je laserová difrakce, pomocí které lze měřit částice o velikostech v rozmezí 0,02 – 2000 μm . Konečná distribuce je objemová ve formě distribuční křivky a také percentilními d-hodnotami dolního decilu, mediánu a horního decilu – D(10), D(50) a D(90). Distribuční křivka popisuje procentuální nárůst výskytu částic s jejich rostoucí velikostí. Je ve tvaru rostoucí funkce s oborem hodnot od 0 do 100 %. [49]

Při laserové difrakci jde v principu o hromadné měření částic a výsledek reprezentuje celý vzorek. Během měření je zajištěn kontinuální průtok částic měřicí celou, na kterých se laserový svazek láme [50]. Údaje o velikostech částic jsou obsaženy v difrakčním obraze, ze kterého jsou následně pomocí Fourierovy transformace převedeny na distribuční křivku. Před měřením vzorků je třeba nejprve vyvinout a validovat nejvhodnější metodu pro konkrétní vzorky. Stanovit tedy fixní a hledané parametry měření, které souvisí s vlastnostmi měřené látky. Laserová difrakce se řadí mezi rychlé, reprodukovatelné a robustní metody. [49], [50]

Postup měření lze popsat třemi následujícími kroky:

- Interakce částic s laserovým paprskem – difrakční obrazce
- Převod difrakčního obrazce do digitálního formátu
- Převod digitálního formátu difrakčního obrazce na distribuční a kumulativní křivku

Jelikož laserová difrakce poskytuje pouze difrakční obraz (nepřímý obraz částice), je vhodné a v mnoha případech nutné doplnit výsledky této metody mikroskopickými snímky.

[50]

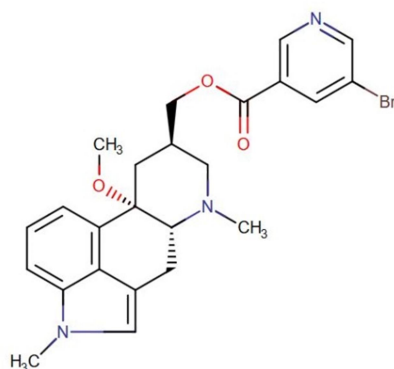
3 PRAKTICKÁ ČÁST

Praktická část diplomové práce shrnuje provedené krystalizační experimenty. Při čtyřech krystalizačních způsobech byly měněny vybrané podmínky jednotlivých krystalizačních postupů a byla sledována řada parametrů výsledných krystalických materiálů. Konkrétní parametry krystalizací a sledované parametry jsou detailně popsány a přiblíženy v následujících kapitolách.

3.1 Charakterizace Nicergolinu

Nicergolin je bílý až světle žlutý krystalický prášek s molární hmotností $M = 484,394 \text{ g.mol}^{-1}$. Sumárním chemickým vzorcem $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{BrN}_3\text{O}_3$. Celým názvem dle IUPAC [(6aR,9R,10aS)-10a-methoxy-4,7-dimethyl-6a,8,9,10-tetrahydro-6H-indolo[4,3-fg]quinolin-9-yl]methyl 5-bromopyridine-3-carboxylate. [51]

Nicergolin patří do skupiny nootropik, tedy do skupiny léčiv, která má pozitivní vliv na funkci a kapacitu mozku. Jedná se o derivát ergolinu a je získáván z námelových alkaloidů. Nicergolin není karcinogenem ani teratogenem. [52]



Obrázek 7: Strukturní vzorec Nicergolinu [53]

Tabulka 1: Vybrané kvalitativní a kvantitativní vlastnosti Nicergolinu [1]

TEST A METODA	SPECIFIKACE
Vzhled	Bílý až nažloutlý prášek
Identita (XR)	XR spektrum testované substance musí být identické se spektrem standardní substance (forma I)
Zbytková organická rozpouštědla Aceton	NMT 3000 ppm
Distribuce velikosti částic*	
D10	NMT 8 μm
D50	NMT 25 μm
D90	NMT 45 μm

*tento parametr může být upraven dle požadavku zákazníka

3.2 Přístroje a podmínky při měření

3.2.1 Crystal 16

Přístroj Crystal 16 slouží mimo jiné také pro sestavení křivky rozpustnosti. Sestává ze čtyř nezávislých bloků s rozsahem pracovních teplot od $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $+100\text{ }^{\circ}\text{C}$. Do každého bloku mohou být umístěny až čtyři vialky. Během analýz je zajištěno magnetické míchání a průběh rozpouštění je zaznamenáván do počítače. Přístroj zaznamenává údaje o rozpustnosti na základě transmitance. Jakmile dojde k rozpouštění dané koncentrace, zvýší se transmitance a daná teplota je zapsána jako teplota, při které došlo k rozpouštění. Pro zjištění křivky rozpustnosti Nicergolinu byla vytvořena koncentrační řada v osmi vialkách a teploty rozpouštění daných koncentrací byly zaznamenány do tabulky, viz *Tabulka 2*.

3.2.2 Reaktor EasyMax 102

Tento typ zařízení, značky Mettler Toledo, slouží pro laboratorní účely také pro přípravu krystalického materiálu. Zařízení se skládá ze dvou na sobě nezávislých hnízd s možností nastavení pracovních teplot od $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $+150\text{ }^{\circ}\text{C}$, do kterých se umísťují skleněné reaktory o objemu 100 ml. Reaktor umožňuje nastavení teplotních ramp, odloženého ohřevu nebo nastavení rychlosti míchání. V reaktoru je zajištěno míchání pomocí míchadla (např. vrtulového, kotvového a dalších), umístěného shora. Dávkování do reaktoru je umožněno pomocí otvorů ve víku. Do těchto otvorů lze dle potřeby umístit teploměr nebo sondu pro měření distribuce velikosti částic v reálném čase. Sledování procesu uvnitř reaktoru je možné přes skleněné okénko nebo je možné celý reaktor vyjmout, aniž by byl přerušen probíhající experiment. Pro ovládání a nastavení podmínek v reaktoru slouží ovládací panel.

3.2.3 Duplikovaný reaktor Atlas HD Crystallization

Výrobce tohoto zařízení je společnost Syrris. Existuje celá řada modifikací reaktoru Atlas s různě velkými skleněnými (nebo kovovými) duplikovanými reaktory s možností provádět také experimenty ve skleněných baňkách nebo vialkách. Lze regulovat například cirkulační teplotu, teplotu reakce nebo také rychlost míchání. Jednou z modifikací je reaktor Atlas HD Crystallization pro provádění a kontrolu krystalizačních dějů.

K tomuto reaktoru byla instalována průtočná ultrazvuková cela Prosonic Sonolab SL10 Sonocrystallizer pro iniciaci nukleace. Iniciace probíhá v tomto případě rovnoměrně

v celém objemu krystalizačního roztoku díky instalaci peristaltické pumpy. Ta je plně kompatibilní s reaktorem Atlas a je dodávána přímo výrobcem. Víko reaktoru, opatřené několika vstupními otvory, umožňuje dávkování reaktantů nebo například vložení čidel pro kontrolu probíhajících dějů. Dávkování reaktantů lze také provádět automatizovaně. Pro vyprazdňování reaktoru slouží na dně umístěný kuželový ventil. Teplotu duplikace lze nastavit v rozsahu od $-90\text{ }^{\circ}\text{C}$ do $+250\text{ }^{\circ}\text{C}$, topnou desku až na $+350\text{ }^{\circ}\text{C}$. Míchání je zajištěno pomocí magnetického (až 1200 otáček za minutu) nebo hřídelového (až 800 otáček za minutu) míchadla. Ovládání reaktoru, kontrola chodu a nastavení podmínek se provádí pomocí softwaru v počítači.

3.2.4 Ultrazvuková sonda Sonics vibra cell VC 505 – VC 750

Ultrazvuková sonda byla použita pro iniciaci nukleace několika šarží. Sonda se skládá ze dvou větších částí – sonifikátoru a napájecího zdroje. Sonifikátor je složen z piezoelektrického měniče (zajišťuje přeměnu elektrické energie na mechanické kmity) a vlnovodu (zajišťuje zvětšení amplitudy mechanického kmity). Postup práce spočívá pouze ve vložení sondy do předem připraveného krystalizačního roztoku a zapnutí požadovaného nastavení. Ve všech případech byla použita sonda VC 750 s výkonem 750 W. Parametry byly nastaveny následovně: kontinuální sonikace, doba sonikace proměnná dle jednotlivých šarží a amplituda výkonu 30 – 80 %. [28]

3.2.5 Malvern Laser Diffraction Mastersizer 2000

Přístroj Mastersizer 2000 slouží ke stanovení distribuce velikosti částic krystalického materiálu metodou laserová difrakce. Měřicí zařízení tohoto typu se skládá z optické části (Optical Bench), která v sobě skrývá především celu, ve které se vzorek měří a také zprostředkovává signál do počítače. Dále se skládá z jedné nebo více disperzních jednotek (Sample Dispersion Units) pro dávkování vzorků a z počítače, který zpracovává údaje a vyhodnocuje měření. [54]

Podrobný popis jednotlivých kroků měření je pro účely této diplomové práce téměř nepodstatný, některé podmínky jsou však v následujícím popisu specifikovány.

Měření distribuce velikosti částic probíhalo v měřicí cele Hydro 2000S dle platného SOP společnosti Teva. U každé šarže byla provedena dvě nezávislá měření. Výsledkem byl průměr obou měření. Před prvním měřením bylo stanovenou pozadí. Navážka činila

150 mg \pm 5 mg Nicergolinu. V případě Nicergolinu probíhá měření ve vodném prostředí. Médiem pro přípravu vzorku byl 1% Tween 80 ve vodě o objemu 5 ml. Mezi jednotlivými měřeními byla cela promyta jednou etanolem a dvakrát demineralizovanou vodou.

Výsledkem měření jsou parametry D(10), D(50) a D(90), které ukazují procentuální zastoupení jednotlivých frakcí ve vzorku. Udávají se v mikrometrech a například parametr D(90) = 200 μ m udává, že 90 % všech částic je menších než 200 μ m.

3.2.6 Plynový chromatograf Agilent

Popis chromatografické kolony je uveden v kapitole 2.9.6. Podmínky měření jsou popsány v následujících odstavcích.

Stanovení obsahu zbytkového acetonu v šaržích Nicergolinu bylo provedeno pomocí plynového chromatografu Agilent 7890B a headspace Agilent 7697A na kapilární koloně Agilent, RES-SOLV, 30 m x 0,53 mm x 1,00 μ m USP stacionární fáze G43 (6%-kyanopropyl, 94%-methyldopolysiloxan). Teplotní gradient začínal časovým úsekem 4,2 minuty při teplotě 40 °C. Poté s rychlostním gradientem 25 °C za minutu byla teplota zvýšena na 180 °C a při této teplotě bylo setrváno po dobu 0,5 minuty.

Teplota inletu byla 220 °C, split 1:8, průtok nosného plynu hélia kolonou byl 4,8 ml.min⁻¹. Teplota plamenově-ionizačního detektoru byla 280 °C, průtok vzduchu 300 ml.min⁻¹, vodíku 30 ml.min⁻¹ a make-up plynu dusíku 20 ml.min⁻¹. Parametry v headspace autosampleru byly následující: teplota termostatu, při které dochází k ekvilibraci vzorku byla 90 °C, teplota smyčky 150 °C a teplota transfer kapiláry 160 °C. Vialka byla ekvilibrována po dobu 20 minut. Tlakování vzorku bylo nastaveno na 1,0 minutu, plnění smyčky 0,2 minuty, ekvilibrace smyčky 0,1 minuty a vzorek byl nastříkovan po dobu 2,0 minut. Headspace byl nastaven na promíchávání vzorku po celou dobu ekvilibrace.

Bylo navažováno 50 mg vzorku do headspace vialky o objemu 20 ml a přidáno 0,50 ml 1-methyl-2-pyrrolidonu jako rozpouštědla. Pro vyhodnocení analýz byl použit software Empower 3, firmy Waters.

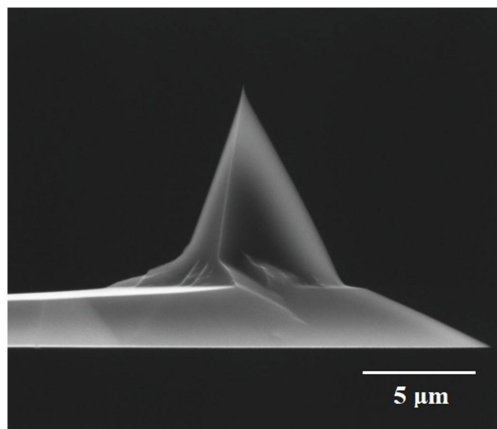
3.2.7 Inverzní chromatograf

Měření povrchové energie probíhalo na přístroji iGC-SEA 2000 (Surface Measurement Systems). Vzorky byly naplněny do silanizované kolony o vnitřním průměru 3 mm a délce 30 cm. Rozpouštědla používaná při měření byla v HPLC kvalitě. Průtok plynů

byl nastaven na 10 sccm (Standard Cubic Centimeters per Minute) a měřicí teplota byla 30 °C. Použitými rozpouštědly byly n-heptan a oktan. Pro měření acidobazické složky povrchové energie byl použit etylacetát a dichlormetan. Disperzní složka povrchové energie byla měřena pomocí metody Dorris a Gray [55]. Acidobazická složka byla určována pomocí stupnice Della Volpe [56].

3.2.8 Mikroskop atomárních sil NT-MDT Next II

Zkušenosti z praxe ukazují, že různé krystalizační metody a techniky vedou k odlišnosti krystalického materiálu, také co se týká drsnosti povrchu krystalů. Měření drsnosti povrchu krystalických vzorků probíhalo pomocí mikroskopu atomárních sil Solver-Next od firmy NT-MDT v laboratoři Centra nanotechnologií VŠB-TU Ostrava. Přístroj se skládá z měřicí části se zabudovaným držákem vzorku pevně spojeným se skenerem a držákem hrotu a z počítačové jednotky s programem Nova PX.



Obrázek 6: Hrot NSG30 GOLDEN [57]; upraveno

Uchycení vzorku bylo zajištěno pomocí transparentní oboustranné lepicí pásky, která byla přilepena na magnetickou podložku. Magnetická podložka je součástí přístroje a je určena k pevnému uchycení vzorku. Měření probíhalo v semikontaktním neboli poklepovém režimu. Toto nastavení je pro krystalické materiály vhodné, aby se minimalizovalo riziko poškození nebo odtržení krystalů z oboustranné pásky. Pro měření vzorků byly použity hroty NSG30 GOLDEN silicon probes TipsNano (Typical Force Constant 40 N.m^{-1} , Typical Resonant Frequency 320 kHz), pomocí nichž byla skenována oblast o velikostech jednotek mikrometrů při skenovací rychlosti 0,2 Hz. Vždy bylo skenováno několik různých míst daného vzorku. Data byla zpracována pomocí programu Gwyddion a byla stanovena morfologie a vyhodnocena drsnost v linii a plošná drsnost.

3.2.9 Freeman FT 4

Měření tokových vlastností probíhalo na práškovém reometru FT4 Powder Rheometr značky Freeman technology. Přístroj se ovládá pomocí počítačového programu a lze zvolit několik testů. Práškové vzorky Nicergolinu byly měřeny pomocí testu *1 ml Shear cell 9 kPa*.

3.3 Krystalizace pomocí očkování

Při sekundární nukleaci pomocí očkování byly měněny velikosti krystalů očkovacího materiálu a také množství očkovacího materiálu, tzv. oka.

3.3.1 Šarže DL180605-01

Do skleněného reaktoru, opatřeného vrtulovým míchadlem, byla převedena navážka 10,00 g Nicergolinu spolu s 55 ml acetonu. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) vyhřáta během 30 minut na teplotu 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Roztok byl následně zchlazen během 15 minut na teplotu 40 °C.

Byl připraven očkovací materiál ve formě suspenze o velikosti 3 hmot. % navážky (300 mg + 3 ml vychlazeného acetonu). K očkování byla použita šarže DL180604-01, totožný krystalický materiál, jako navážka. Očkovací materiál byl do roztoku nadávkován pomocí mikropipety při teplotě 40 °C. Po naočkování byl roztok míchán 15 minut při teplotě 40 °C a dále pak zchlazen během 60 minut na 0 °C a dalších 60 minut míchán v reaktoru při teplotě 0 °C. Od doby, kdy byl roztok naočkován, byla do reaktoru umístěna FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Vyloučené krystaly byly zfiltrvány na keramické fritě, promyty 5 ml vychlazeného acetonu a vysušeny pod inertní atmosférou při teplotě 55 °C po dobu 10 hodin.

Výtěžek šarže DL 180605-01: 7,10 g bílé krystalické látky, tj. 68,93 % th.

3.3.2 Šarže DL180607-01

Do skleněného reaktoru, opatřeného vrtulovým míchadlem, byla převedena navážka 10,00 g Nicergolinu spolu s 55 ml acetonu. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) vyhřáta během 30 minut na teplotu 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Roztok byl následně zchlazen během 15 minut na teplotu 37 °C.

Byl připraven očkovací materiál ve formě suspenze o velikosti 3 hmot. % navážky (300 mg + 3 ml vychlazeného acetonu). K očkování byla použita šarže DL180605-03, která

byla předem pomleta na kulovém mlýně. Očkovací materiál byl do roztoku nadávkován pomocí mikropipety při teplotě 37 °C. Po naočkování byl roztok míchán 15 minut při teplotě 37 °C a dále pak zchlazen během 60 minut na 0 °C a dalších 60 minut míchán při teplotě 0 °C. Od doby, kdy byl roztok naočkován, byla do reaktoru umístěna FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Vyloučené krystaly byly zfiltrvány na skleněné fritě, promyty 5 ml vychlazeného acetonu a vysušeny pod inertní atmosférou při teplotě 55 °C po dobu 10 hodin.

Výtěžek šarže DL 180607-01: 6,84 g bílé krystalické látky, tj. 66,41 % th.

3.3.3 Šarže DL180611-01

Do skleněného reaktoru, opatřeného vrtulovým míchadlem, byla převedena navážka 10,00 g Nicergolinu spolu s 55 ml acetonu. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) vyhráta během 30 minut na teplotu 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Roztok byl následně zchlazen během 15 minut na teplotu 37 °C.

Byl připraven očkovací materiál ve formě suspenze o velikosti 10 hmot. % navážky (1000 mg + 3 ml vychlazeného acetonu). K očkovaní byla použita šarže DL180605-03. Očkovací materiál byl do roztoku nadávkován pomocí mikropipety při teplotě 37 °C. Po naočkování byl roztok míchán 15 minut při teplotě 37 °C a dále pak zchlazen během 60 minut na 0 °C a dalších 60 minut míchán při teplotě 0 °C. Od doby, kdy byl roztok naočkován, byla do reaktoru umístěna FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Vyloučené krystaly byly zfiltrvány na skleněné fritě, promyty 5 ml vychlazeného acetonu a vysušeny pod inertní atmosférou při teplotě 55 °C po dobu 10 hodin.

Výtěžek šarže DL 180611-01: 7,33 g bílé krystalické látky, tj. 66,64 % th.

3.3.4 Šarže DL180614-01

Do skleněného reaktoru, opatřeného vrtulovým míchadlem, byla převedena navážka 10,00 g Nicergolinu spolu s 55 ml acetonu. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) vyhráta během 30 minut na teplotu 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Roztok byl následně zchlazen během 15 minut na teplotu 37 °C.

Byl připraven očkovací materiál ve formě suspenze o velikosti 20 hmot. % navážky (2000 mg + 3 ml vychlazeného acetonu). K očkovaní byla použita šarže DL180611-02. Do roztoku byl nadávkován pomocí mikropipety při teplotě 37 °C. Po naočkování byl roztok

míchán 15 minut při teplotě 37 °C a dále pak zchlazen během 60 minut na 0 °C a dalších 60 minut míchán při teplotě 0 °C. Od doby, kdy byl roztok naočkován, byla do reaktoru umístěna FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Vyloučené krystaly byly zfiltrvány na skleněné fritě, promyty 5 ml vychlazeného acetonu a vysušeny pod inertní atmosférou při teplotě 55 °C po dobu 10 hodin.

Výtěžek šarže DL 180614-01: 8,18 g bílé krystalické látky, tj. 68,17 % th.

3.3.5 Šarže DL180625-01

Do skleněného reaktoru, opatřeného vrtulovým míchadlem, byla převedena navážka 24,50 g Nicergolinu spolu se 70 ml acetonu. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) vyhřáta během 30 minut na teplotu 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Roztok byl následně zchlazen během 15 minut na teplotu 37 °C.

Byl připraven očkovací materiál ve formě suspenze o velikosti 3 hmot. % navážky (735 mg + 3 ml vychlazeného acetonu). K očkování byla použita šarže DL180605-03, která byla přesítována na sítu o velikosti 100 µm. Do roztoku byl nadávkován pomocí mikropipety při teplotě 37 °C. Po naočkování byl roztok míchán 15 minut při teplotě 37 °C a dále pak zchlazen během 60 minut na 0 °C a dalších 60 minut míchán při teplotě 0 °C. Od doby, kdy byl roztok naočkován, byla do reaktoru umístěna FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Vyloučené krystaly byly zfiltrvány na skleněné fritě, promyty 5 ml vychlazeného acetonu a vysušeny pod inertní atmosférou při teplotě 55 °C po dobu 10 hodin.

Výtěžek šarže DL180625-01: 20,92 g bílé krystalické látky, tj. 82,90 % th.

3.3.6 Šarže DL181123-01

Do skleněného reaktoru, opatřeného vrtulovým míchadlem, byla převedena navážka 10,00 g Nicergolinu spolu se 55 ml acetonu. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) vyhřáta během 30 minut na teplotu 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Roztok byl následně zchlazen během 15 minut na teplotu 37 °C.

Byl připraven očkovací materiál ve formě suspenze o velikosti 10 hmot. % navážky (1000 mg + 5 ml vychlazeného acetonu). K očkování byla použita šarže DL181122-02. Do roztoku byl nadávkován pomocí mikropipety při teplotě 37 °C. Po naočkování byl roztok míchán 15 minut při teplotě 37 °C a dále pak zchlazen během 60 minut na 0 °C a dalších 60 minut míchán při teplotě 0 °C. Od doby, kdy byl roztok naočkován, byla do reaktoru

umístěna FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Vyloučené krystaly byly zfiltrvány na skleněné fritě, promyty 5 ml vychlazeného acetonu a vysušeny pod inertní atmosférou při teplotě 55 °C po dobu 10 hodin.

Výtěžek šarže DL181123-01: 7,98 g bílé krystalické látky, tj. 71,73 % th.

3.3.7 Šarže DL181127-01

Do skleněného reaktoru, opatřeného vrtulovým míchadlem, byla převedena navážka 10,00 g Nicergolinu spolu se 55 ml acetonu. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) vyhráta během 30 minut na teplotu 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Roztok byl následně zchlazen během 15 minut na teplotu 37 °C.

Byl připraven očkovací materiál ve formě suspenze o velikosti 1 hmot. % navážky (100 mg + 2 ml vychlazeného acetonu). K očkování byla použita šarže DL181122-02. Do roztoku byl nadávkován pomocí mikropipety při teplotě 37 °C. Po naočkování byl roztok míchán 15 minut při teplotě 37 °C a dále pak zchlazen během 60 minut na 0 °C a dalších 60 minut míchán při teplotě 0 °C. Od doby, kdy byl roztok naočkován, byla do reaktoru umístěna FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Vyloučené krystaly byly zfiltrvány na skleněné fritě, promyty 5 ml vychlazeného acetonu a vysušeny pod inertní atmosférou při teplotě 55 °C po dobu 10 hodin.

Výtěžek šarže DL 181127-01: 7,13 g bílé krystalické látky, tj. 70,59 % th.

3.3.8 Šarže DL181206-01

Do skleněného reaktoru, opatřeného vrtulovým míchadlem, byla převedena navážka 10,00 g Nicergolinu spolu se 55 ml acetonu. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) vyhráta během 30 minut na teplotu 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Roztok byl následně zchlazen během 15 minut na teplotu 37 °C.

Byl připraven očkovací materiál ve formě suspenze o velikosti 40 hmot. % navážky (4000 mg + 10 ml vychlazeného acetonu). K očkování byla použita šarže DL181127-02. Do roztoku byl nadávkován pomocí mikropipety při teplotě 37 °C. Po naočkování byl roztok míchán 15 minut při teplotě 37 °C a dále pak zchlazen během 60 minut na 0 °C a dalších 60 minut míchán při teplotě 0 °C. Od doby, kdy byl roztok naočkován, byla do reaktoru umístěna FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Vyloučené krystaly byly zfiltrvány na skleněné fritě, promyty 5 ml vychlazeného acetonu a vysušeny pod inertní atmosférou při teplotě 55 °C po dobu 10 hodin.

Výtěžek šarže DL 181206-01: 10,17 g bílé krystalické látky, tj. 72,64% th.

3.4 Krystalizace pomocí ultrazvukové sondy

Při krystalizaci za použití ultrazvukové sondy byla měněna doba sonikace. Ostatní parametry zůstaly stejné ve všech případech.

3.4.1 Šarže DL180618-01

Navážka 10,00 g Nicergolinu byla převedena spolu s 55 ml acetonu do reaktoru, opatřeného vrtulovým míchadlem. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) během 30 minut vyhřáta na 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Následně byl roztok během 15 minut zchlazen a teplota byla udržována okolo 30 °C. Po zchlazení bylo přistoupeno k iniciaci nukleace pomocí ultrazvukové sondy. Byla nastavena kontinuální sonikace s amplitudou 40 % a použita sonda VC 750 s výkonem 750 W. Iniciace proběhla v rozmezí teplot 37 – 40 °C. Roztok byl umístěn do vodní lázně s ledem (teplota lázně 30 °C). Po 15 minutách sonikace proběhlo vyloučení pevné fáze. Poté byla suspenze ochlazená na 0 °C během 60 minut a dále pak ještě při této teplotě 60 minut míchána, a to v reaktoru EasyMax 102. Od doby chlazení byla do suspenze zavedena FBRM sonda opět pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Krystaly byly zfiltrvány na skleněné fritě, promyty vychlazeným acetonem a následně vysušeny pod inertní atmosférou během 10 hodin při teplotě 55 °C.

Výtěžek šarže DL180618-01: 7,24 g bílé krystalické látky, tj. 72,40 % th.

3.4.2 Šarže DL180619-01

Navážka 10,00 g Nicergolinu byla převedena spolu s 55 ml acetonu do reaktoru, opatřeného vrtulovým míchadlem. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) během 30 minut vyhřáta na 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Následně byl roztok během 15 minut zchlazen a teplota byla udržována okolo 30 °C. Po zchlazení bylo přistoupeno k iniciaci nukleace pomocí ultrazvukové sondy. Byla nastavena kontinuální sonikace s amplitudou 40 % a použita sonda VC 750 s výkonem 750 W. Vyloučení pevné fáze proběhlo v podstatě okamžitě, a to po 3 minutách sonikace. Poté byla suspenze ochlazená na 0 °C během 60 minut a dále pak ještě při této teplotě 60 minut míchána, a to v reaktoru EasyMax 102. Od doby chlazení byla do suspenze zavedena FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Krystaly byly zfiltrvány na skleněné fritě,

promyty vychlazeným acetonem a následně vysušeny pod inertní atmosférou během 10 hodin při teplotě 55 °C.

Výtěžek šarže DL180619-01: 6,93 g bílé krystalické látky, tj. 69,30 % th.

3.4.3 Šarže DL180621-01

Navážka 15,00 g Nicergolinu byla převedena spolu s 82 ml acetonu do reaktoru, opatřeného vrtulovým míchadlem. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) během 30 minut vyhřáta na 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Následně byl roztok během 15 minut zchlazen a teplota byla udržována okolo 30 °C. Po zchlazení bylo přistoupeno k iniciaci nukleace pomocí ultrazvukové sondy. Byla nastavena kontinuální sonikace s amplitudou 40 % a použita sonda VC 750 s výkonem 750 W. Roztok byl umístěn do vodní lázně s ledem. Iniciace nukleace proběhla okolo 28 °C. Po 15 minutách sonikace proběhlo vyloučení pevné fáze. Poté byla suspenze ochlazená na 0 °C během 60 minut a dále pak ještě při této teplotě 60 minut míchána, a to v reaktoru EasyMax 102. Od doby chlazení byla do suspenze zavedena FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Krystaly byly zfiltrvány na skleněné fritě, promyty vychlazeným acetonem a následně vysušeny pod inertní atmosférou během 10 hodin při teplotě 55 °C.

Výtěžek šarže DL180621-01: 10,93 g bílé krystalické látky, tj. 72,87 % th.

3.4.4 Šarže DL181122-01

Navážka 10,00 g Nicergolinu byla převedena spolu s 55 ml acetonu do reaktoru, opatřeného vrtulovým míchadlem. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) během 30 minut vyhřáta na 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Následně byl roztok během 15 minut zchlazen a teplota byla udržována okolo 30 °C. Po zchlazení bylo přistoupeno k iniciaci nukleace pomocí ultrazvukové sondy. Byla nastavena kontinuální sonikace s amplitudou 40 % a použita sonda VC 750 s výkonem 750 W. Vyloučení pevné fáze proběhlo v podstatě okamžitě, a to po 3 minutách sonikace, v sonikaci bylo pokračováno ještě další 2 minuty. Poté byla suspenze ochlazená na 0 °C během 60 minut a dále pak ještě při této teplotě 60 minut míchána, a to v reaktoru EasyMax 102. Od doby chlazení byla do suspenze zavedena FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Krystaly byly zfiltrvány na skleněné fritě, promyty vychlazeným acetonem a následně vysušeny pod inertní atmosférou během 10 hodin při teplotě 55 °C.

Výtěžek šarže DL181122-01: 6,95 g bílé krystalické látky, tj. 69,50 % th.

3.4.5 Šarže DL181203-01

Navážka 10,00 g Nicergolinu byla převedena spolu s 55 ml acetonu do reaktoru, opatřeného vrtulovým míchadlem. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) během 30 minut vyhřáta na 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Následně byl roztok během 15 minut zchlazen a teplota byla udržována okolo 30 °C. Po zchlazení bylo přistoupeno k iniciaci nukleace pomocí ultrazvukové sondy. Byla nastavena kontinuální sonikace s amplitudou 40 % a použita sonda VC 750 s výkonem 750 W. Vyloučení pevné fáze proběhlo po 6 minutách sonikace. Sonikace však probíhala 30 minut. Poté byla suspenze ochlazená na 0 °C během 60 minut a dále pak ještě při této teplotě 60 minut míchána, a to v reaktoru EasyMax 102. Od doby chlazení byla do suspenze zavedena FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Krystaly byly zfiltrovány na skleněné fritě, promyty vychlazeným acetonem a následně vysušeny pod inertní atmosférou během 10 hodin při teplotě 55 °C.

Výtěžek šarže DL181203-01: 6,92 g bílé krystalické látky, tj. 69,20 % th.

3.5 Krystalizace pomocí ultrazvukové průtočné cely

Při krystalizačních experimentech pomocí ultrazvukové průtočné cely byla měněna doba iniciace nukleace.

3.5.1 Šarže DL190108-01-2

Do skleněného reaktoru o objemu 100 ml, opatřeného lopatkovým míchadlem, byla převedena navážka 91,00 g Nicergolinu spolu s 500 ml acetonu. Suspenze byla za stálého míchání (400 rpm) vyhřáta během 45 minut na teplotu 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Roztok byl následně zchlazen během 30 minut na teplotu 37 °C. Poté bylo spuštěno čerpání pomocí peristaltické pumpy přes ultrazvukovou celu. Po 10 minutách iniciace ultrazvukem nebylo zjevné zakalení roztoku, a tak bylo přistoupeno k ochlazování roztoku. Při teplotě 25 °C (po 20 minutách sonikace) se roztok začal zakalovat. Jakmile poklesla teplota na 15 °C, byla část suspenze (označena jako šarže DL190108-01-2) převedena do reaktoru EasyMax 102 a při teplotě 10 °C byla míchána 60 minut. Do reaktoru byla umístěna FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Následně byly krystaly přefiltrovány na skleněné fritě a promyty vychlazeným acetonem. Část suspenze (označena jako DL190108-01-1) byla pouze přefiltrována. Obě šarže byly následně vysušeny pod inertní atmosférou během 10 hodin při teplotě 55 °C.

Výtěžek šarže DL 190108-01-2: nebyl sledován.

3.5.2 Šarže DL190110-01-2

Do skleněného reaktoru, opatřeného lopatkovým míchadlem, byla převedena navážka 91,00 g Nicergolinu spolu s 500 ml acetonu. Suspenze byla za stálého míchání (400 rpm) vyhřáta během 45 minut na teplotu 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Roztok byl následně zchlazen během 30 minut na teplotu 26 °C. Poté bylo spuštěno čerpání pomocí peristaltické pumpy přes ultrazvukovou celu. Po 5 minutách iniciace ultrazvukem se roztok začal zakalovat. Celková iniciace ultrazvukem byla 60 minut. Poté byl roztok ochlazen na 10 °C a část suspenze (označena jako šarže DL190110-01-2) byla převedena do reaktoru EasyMax 102 a při teplotě 10 °C míchána 60 minut. Do reaktoru byla umístěna FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Následně byly krystaly přefiltrovány na skleněné fritě a promyty vychlazeným acetonem. Část suspenze (označena jako DL190110-01-1) byla pouze přefiltrována. Obě šarže byly následně vysušeny pod inertní atmosférou během 10 hodin při teplotě 55 °C.

Výtěžek šarže DL 190110-01-2: nebyl sledován.

3.5.3 Šarže DL190124-01-2

Do skleněného reaktoru, opatřeného lopatkovým míchadlem, byla převedena navážka 91,00 g Nicergolinu spolu s 500 ml acetonu. Suspenze byla za stálého míchání (400 rpm) vyhřáta během 45 minut na teplotu 53 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Roztok byl následně zchlazen během 30 minut na teplotu 26 °C. Poté bylo spuštěno čerpání pomocí peristaltické pumpy přes ultrazvukovou celu. Po 5 minutách iniciace ultrazvukem se roztok začal zakalovat. Celková iniciace ultrazvukem byla 120 minut. Poté byl roztok ochlazen na 10 °C a část suspenze (označena jako šarže DL190124-01-2) byla převedena do reaktoru EasyMax 102 a při teplotě 10 °C míchána 60 minut. Do reaktoru byla umístěna FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Následně byly krystaly přefiltrovány na skleněné fritě a promyty vychlazeným acetonem. Část suspenze (označena jako DL190124-01-1) byla pouze přefiltrována. Obě šarže byly následně vysušeny pod inertní atmosférou během 10 hodin při teplotě 55 °C.

Výtěžek šarže DL 190124-01-2: nebyl sledován.

3.6 Krystalizace za pomoci keramických kuliček Zirmil® Y

Při nukleaci vyvolané pomoci keramických kuliček Zirmil® Y byly použity kuličky s různými průměry.

3.6.1 Šarže DL180626-01

Do skleněného reaktoru (dále označen jako „R1“), opatřeného kotvovým míchadlem, byla převedena navážka 24,50 g Nicergolinu spolu se 70 ml acetonu. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) vyhřáta během 30 minut na teplotu 55 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Roztok byl následně zchlazen během 15 minut na teplotu 40 °C. Zirkoniové kuličky o průměru 1 mm byly promyty acetonem a vysušeny v proudu dusíku. Po vychlazení roztoku bylo 50 ml kuliček nasypáno do R1 za stálého míchání kotvového míchadla. Krystalizace proběhla v podstatě okamžitě po nasypání kuliček do R1. Suspenze byla od té doby míchána 5 minut. Po uplynutí této doby byla suspenze za pomoci vývěvy se sací trubičkou se sítím převedena do vedlejšího reaktoru (dále označen jako „R2“), opatřeného vrtulovým míchadlem. Tento reaktor byl vyhřátý na teplotu 40 °C. V R2 byla krystalizační směs míchána ještě 5 minut, poté byla směs během 60 minut vychlazená na 0 °C a při této teplotě míchána ještě dalších 60 minut. Od doby, kdy byla suspenze převedena do R2, byla do R2 umístěna FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Vyloučené krystaly byly zfiltrovány na skleněné fritě, promyty 5 ml vychlazeného acetonu a vysušeny pod inertní atmosférou při teplotě 55 °C po dobu 10 hodin. Použité kuličky byly v R1 propláchnuty v metanolu při teplotě 55 °C po dobu přibližně 60 minut. Poté byly přefiltrovány a několikrát promyty čistým metanolem při laboratorní teplotě a vysušeny pod proudem dusíku.

Výtěžek šarže DL 180626-01: 16,74 g bílé krystalické látky, tj. 68,33% th.

3.6.2 Šarže DL180905-01

Do skleněného reaktoru (dále označen jako „R1“), opatřeného kotvovým míchadlem, byla převedena navážka 24,50 g Nicergolinu spolu se 70 ml acetonu a s 50 ml zirkoniových kuliček o průměru 0,5 mm. Zirkoniové kuličky byly promyty acetonem a vysušeny v proudu dusíku. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) vyhřáta během 30 minut na teplotu 55 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Roztok byl následně

zchlazen během 15 minut na teplotu 40 °C. Krystalizace proběhla v podstatě okamžitě po dosažení teploty 40 °C. Suspenze byla za pomoci vývěvy se sací trubičkou se sítí převedena do vedlejšího reaktoru (dále označen jako „R2“), opatřeného vrtulovým míchadlem. Suspenze byla od té doby míchána 5 minut. Tento reaktor byl vyhřátý na teplotu 40 °C. V R2 byla krystalizační směs míchána ještě 5 minut, poté byla směs během 60 minut vychlazena na 0 °C a při této teplotě míchána ještě dalších 60 minut. Od doby, kdy byla suspenze převedena do R2, byla do R2 umístěna FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Vyloučené krystaly byly zfiltrvány na skleněné fritě, promyty 5 ml vychlazeného acetonu a vysušeny pod inertní atmosférou při teplotě 55 °C po dobu 10 hodin. Použité kuličky byly v R1 propláchnuty v metanolu při teplotě 55 °C po dobu přibližně 60 minut. Poté byly přefiltrovány a několikrát promyty čistým metanolem při laboratorní teplotě a vysušeny pod proudem dusíku.

Výtěžek šarže DL 180905-01: 9,66 g bílé krystalické látky, tj. 39,43% th.

3.6.3 Šarže DL181023-01

Do skleněného reaktoru (dále označen jako „R1“), opatřeného kotvovým míchadlem, byla převedena navážka 24,50 g Nicergolinu spolu se 70 ml acetonu a s 50 ml zirkoniových kuliček o průměru 2,0 mm. Zirkoniové kuličky byly promyty acetonem a vysušeny v proudě dusíku. Suspenze byla za stálého míchání (250 rpm) vyhřáta během 30 minut na teplotu 55 °C. K rozpuštění pevné fáze došlo v rozmezí teplot 45 – 48 °C. Roztok byl následně zchlazen během 15 minut na teplotu 40 °C. Při teplotě 41 °C začal Nicergolin krystalovat. Vzniklá suspenze byla za pomoci vývěvy se sací trubičkou se sítí převedena do vedlejšího reaktoru (dále označen jako „R2“), opatřeného vrtulovým míchadlem. Suspenze byla od té doby míchána 5 minut. Tento reaktor byl vyhřátý na teplotu 40 °C. V R2 byla krystalizační směs míchána ještě 5 minut, poté byla směs během 60 minut vychlazena na 0 °C a při této teplotě míchána ještě dalších 60 minut. Od doby, kdy byla suspenze převedena do R2, byla do R2 umístěna FBRM sonda pro analýzu velikosti částic v reálném čase. Vyloučené krystaly byly zfiltrvány na skleněné fritě, promyty 5 ml vychlazeného acetonu a vysušeny pod inertní atmosférou při teplotě 55 °C po dobu 10 hodin. Použité kuličky byly v R1 propláchnuty v metanolu při teplotě 55 °C po dobu přibližně 60 minut. Poté byly přefiltrovány a několikrát promyty čistým metanolem při laboratorní teplotě a vysušeny pod proudem dusíku.

Výtěžek šarže DL 181023-01: 19,42 g bílé krystalické látky, tj. 79,27% th.

3.7 Příprava ostatních šarží

3.7.1 Šarže DL180605-03

Nicergolin byl rozemlet v kulovém mlýně po dobu 30 minut při frekvenci 30 kmitů za sekundu.

3.7.2 Šarže DL180611-02

Nicergolin byl rozemlet v kulovém mlýně po dobu 30 minut při frekvenci 30 kmitů za sekundu a následně přesítován přes síto o velikosti 100 μm .

3.7.3 Šarže DL181122-02

Nicergolin byl rozemlet v kulovém mlýně po dobu 30 minut při frekvenci 30 kmitů za sekundu.

3.7.4 Šarže DL181127-02

Nicergolin byl rozemlet v kulovém mlýně po dobu 30 minut při frekvenci 30 kmitů za sekundu a následně přesítován přes síto o velikosti 100 μm .

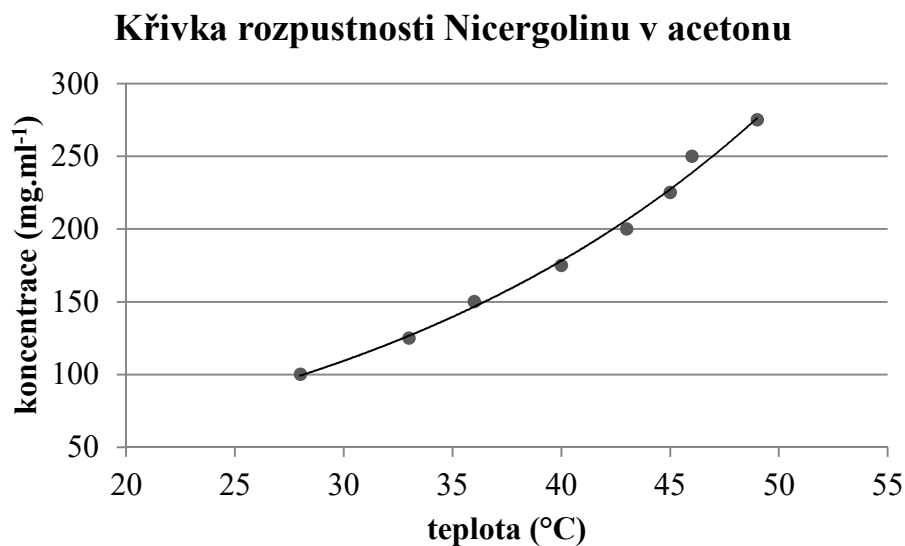
4 VÝSLEDKY

4.1 Křivka rozpustnosti

Z analýzy rozpustnosti Nicergolinu v acetonu byly zjištěny teploty, při kterých se rozpustily jednotlivé koncentrace Nicergolinu, viz *Tabulka 2*, a byl vytvořen graf závislosti teploty rozpuštění na hmotnostní koncentraci Nicergolinu v acetonu, viz *Obrázek 8*.

Tabulka 2: Závislost koncentrace na teplotě rozpustnosti

t (°C)	c (mg.ml ⁻¹)
28	100
33	125
36	150
40	175
43	200
45	225
46	250
49	275



Obrázek 8: Křivka rozpustnosti Nicergolinu v acetonu

4.2 Porovnání výsledků mezi jednotlivými způsoby krystalizace

Byla vybrána jedna šarže z každého způsobu krystalizace pro porovnání vlastností mezi těmito způsoby příprav.

Sledovanými parametry byly:

- výtěžek
- obsah zbytkového acetonu
- distribuce velikosti částic z metody FBRM a PSD
- tvar krystalů
- faktor tečení
- povrchová energie
- drsnost povrchu v linii popsána střední aritmetickou odchylkou profilu

Získané výsledky jsou uspořádány v následující tabulce, viz *Tabulka 3*, následují výstupy z měření na AFM, grafy objemových distribucí částic získané pomocí laserové difrakce, fotky ze skenovacího elektronového mikroskopu a výsledky měření povrchové energie. Velikost specifického povrchu není součástí sledovaných parametrů, ale je potřebná pro zjištění povrchové energie. Proto je zde pro názornost pouze uvedena.

Tabulka 3: Výsledky analýz vybraných šarží

Šarže / způsob přípravy	Výtěžek (%)	aceton (ppm)	PSD (μm)			ff (-)
			D(10)	D(50)	D(90)	
DL180625-01 / očkování	82,90	337	9	44	96	3,34
DL181203-01 / ultrazvuková sonda	69,20	684	15	38	70	7,27
DL190124-01-2 / ultrazvuková cela	-	670	14	30	54	3,40
DL180905-01 / Zirmil Y®	39,43	521	12	17	41	3,35

Šarže / způsob přípravy	S_{povrch} (m ² .g ⁻¹)	$\Delta\gamma_f$ (mJ.m ²)	$\overline{R_a}$ (μm)
DL180625-01 / očkování	0,9177	29,5	0,0150
DL181203-01 / ultrazvuková sonda	0,7943	28,7	0,0026
DL190124-01-2 / ultrazvuková cela	0,7231	21,9	0,1300
DL180905-01 / Zirmil Y®	0,9738	23,4	0,0110

4.2.1 Výtěžek

Výtěžek šarže udaný v procentech je největší u očkované šarže DL180625-01, konkrétně 82,90 %. Nejmenší výtěžek – 39,43 % – byl získán u šarže DL180905-01, připravené pomocí keramických templátů. To bylo ovšem zapříčiněno nesprávnou manipulací a chybou při transportu do jiného reaktoru a při procesu filtrace.

4.2.2 Obsah zbytkového acetonu

Obsah zbytkového acetonu nebyl překročen u žádné z připravených šarží. Odpadá tedy nutnost delšího sušení, než bylo nastaveno. Nejmenší obsah acetonu má šarže DL180625-01 připravená očkováním, konkrétně 337 ppm. Největší obsah zbytkového acetonu má šarže DL181203-01, připravená pomocí ultrazvukové cely. Největší obsah zbytkového acetonu je 684 ppm a je stále pod limitem – 3000 ppm.

4.2.3 Velikost distribuce částic

Velikostní distribuce částic odpovídá dle specifikace, viz *Tabulka 1*, nejlépe šarže DL180905-01, připravená pomocí templátů. Z porovnávaných šarží má nejmenší parametr $D(90)$, který činí 41 μm . Naopak nejvyšší parametr $D(90)$ má šarže DL180625-01, připravená pomocí očkování. Konkrétně $D(90) = 96 \mu\text{m}$. Čím více homogenní materiál je k dispozici, tím homogennější složení léků. Více homogenní materiál se také lépe tabletuje a není třeba následných úprav, jako například sítování nebo mletí.

4.2.4 Tokové vlastnosti

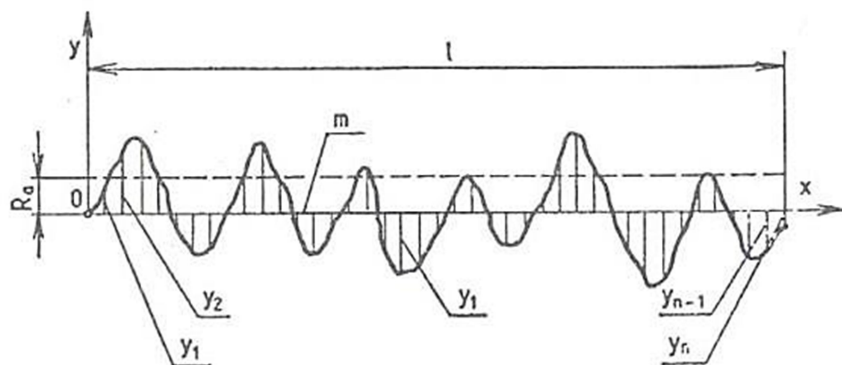
Tokové vlastnosti souvisí s tvarem a velikostí krystalů, ale také s povrchem jednotlivých krystalů. Nejlepší tokové vlastnosti s faktorem tečení $ff = 7,27$ má šarže DL181203-01, připravená pomocí ultrazvukové cely. Hodnotou 7,27 se řadí mezi materiály snadno tekoucí. Další tři šarže, připravené očkováním, pomocí ultrazvukové průtočné cely a pomocí keramických kuliček, se řadí s hodnotou faktoru tečení $ff \sim 3,5$ mezi kohezivní materiály.

4.2.5 Topografie krystalů

Drsnost povrchu krystalů Nicergolinu byla popsána střední aritmetickou odchylkou profilu R_a , která se pro popis drsnosti používá nejčastěji [58]. U každého vzorku byly naměřeny 3 linie a pomocí softwaru Gwyddion vypočítány 3 jednotlivé střední aritmetické odchylky profilů R_a . Z těchto jednotlivých R_a byl následně spočten aritmetický průměr pro získání $\overline{R_a}$ v mikrometrech. $\overline{R_a}$ slouží pro porovnání drsností povrchů čtyř vybraných šarží.

Z průměrných středních aritmetických odchylek vyplývá, že nejvíce drsný povrch krystalů má šarže DL190124-01-2, připravená pomocí ultrazvukové průtočné cely s hodnotou $\overline{R_a} = 0,1300 \mu\text{m}$. Nejhladší povrch má ze všech změřených vzorků šarže DL181203-01, připravená pomocí ultrazvukové sondy. Téměř srovnatelné drsnosti byly naměřeny u šarže DL180625-01 ($\overline{R_a} = 0,0150 \mu\text{m}$), připravené očkováním a šarže DL180905-01 ($\overline{R_a} = 0,0110 \mu\text{m}$), připravené za pomoci templátů.

Výsledné topografie (viz *Obrázek 12*) a snímky uchycených krystalů (viz *Obrázek 10*) jsou zobrazeny na následujících stranách. Jsou vyznačeny měřené linie a jednotlivé hodnoty R_a pro konkrétní linie. Softwarový výpočet střední aritmetické odchylky pomocí integrálu demonstruje rovnice (11), kde výraz $y(x)$ popisuje základní odchylku od základní čáry profilu.



Obrázek 9: Znázornění střední aritmetické odchylky profilu [58]

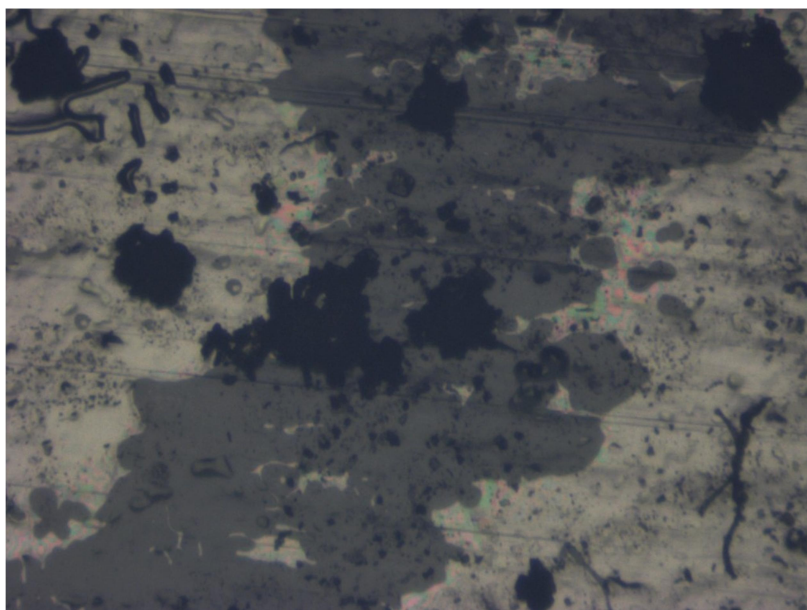
$$R_a = 1/l \int_0^l |y(x)| dx \quad (11)$$

R_a ... střední aritmetická odchylka profilu

l ... základní délka

m ... střední čára profilu

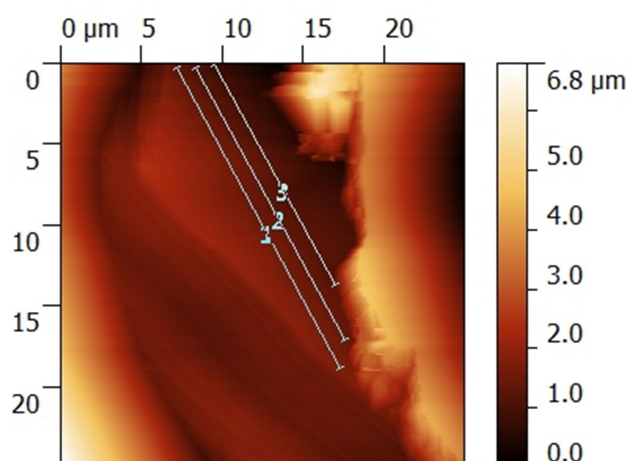
ŠARŽE DL180625-01:



Obrázek 10: Práškový vzorek šarže DL180625-01 pod mikroskopem atomárních sil připevněný na oboustranné transparentní pásce - nejtavší odstín představuje krystaly

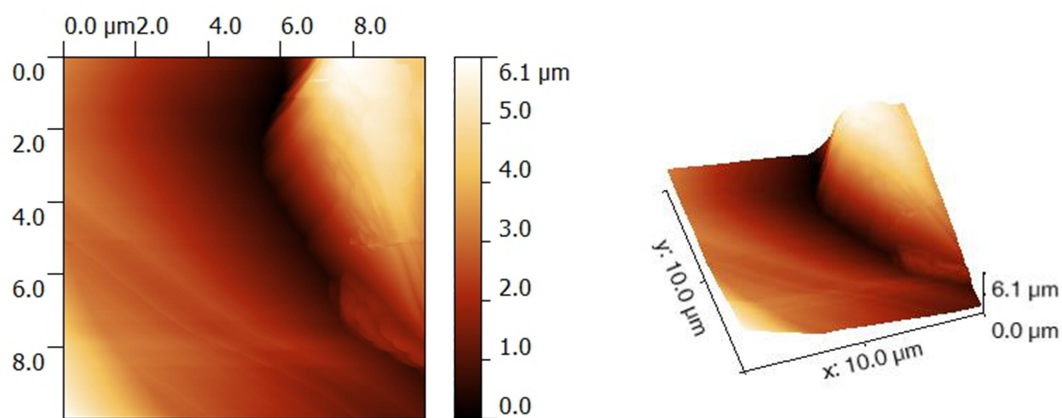
Tabulka 4: Výsledky měření AFM šarže DL180625-01

DL180625-01	R_a (μm)	$\overline{R_a}$ (μm)
Linie 1	0,013	
Linie 2	0,013	0,015
Linie 3	0,018	



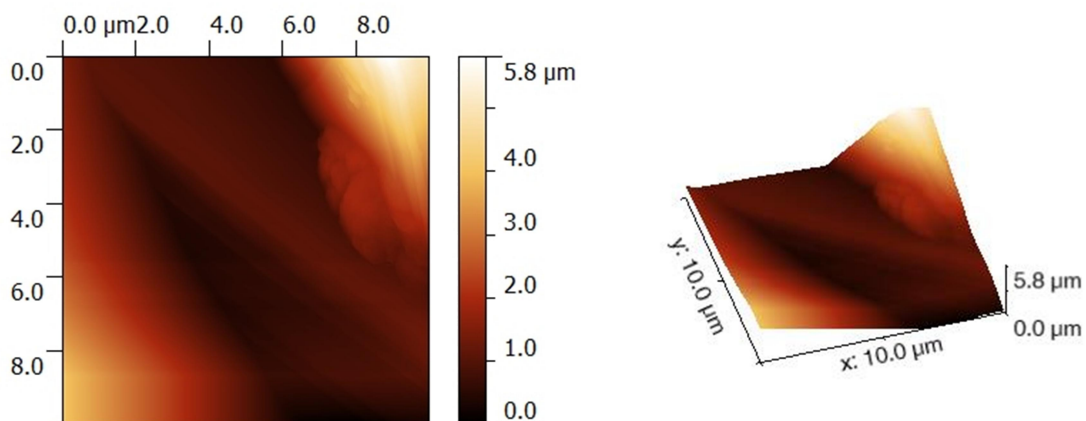
Obrázek 11: Vzorek šarže DL180625-01 při měření drsnosti v linii

Výsledné topografie šarže DL180625-01 pořízené pomocí AFM:



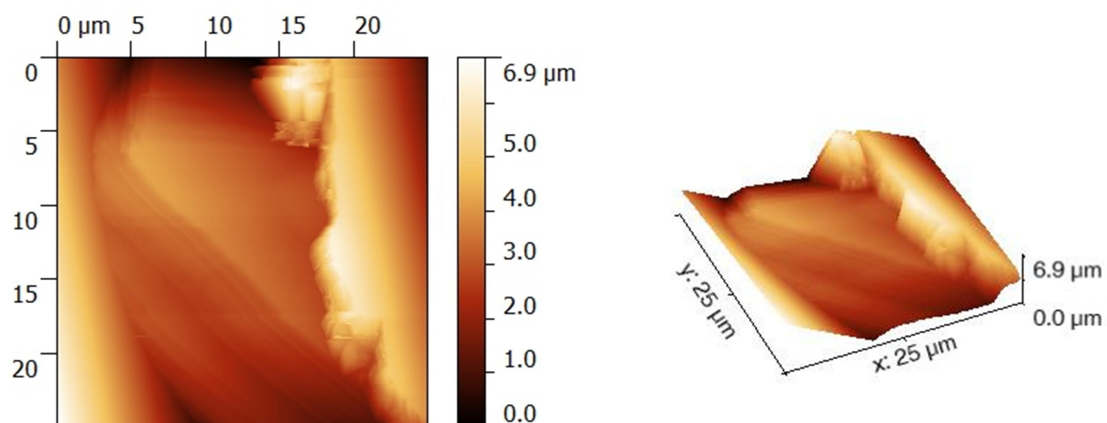
NCG DL180625-01

Obrázek 12: Výsledná topografie (1) šarže DL180625-01; pořízeno v CNT při VŠB-TUO



NCG DL180625-01

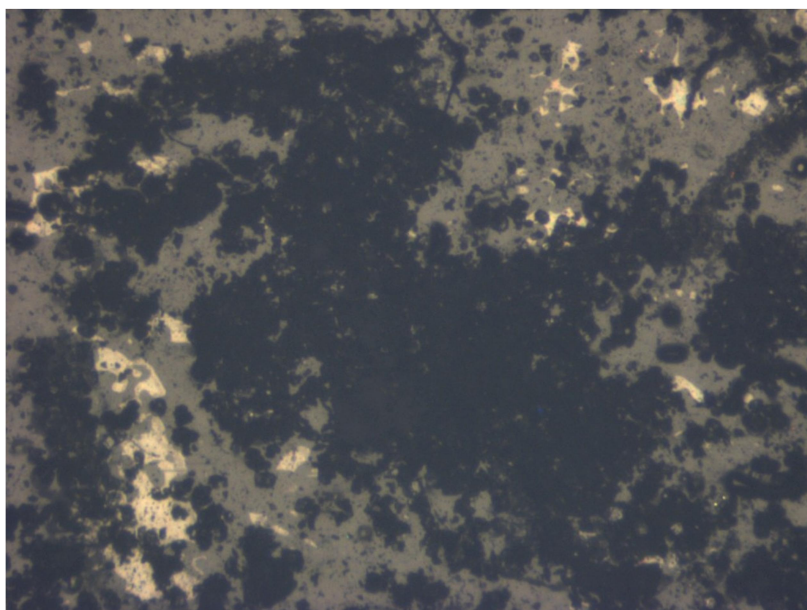
Obrázek 13: Výsledná topografie (2) šarže DL180625-01; pořízeno v CNT při VŠB-TUO



NCG DL180625-01

Obrázek 14: Výsledná topografie (3) šarže DL180625-01; pořízeno v CNT při VŠB-TUO

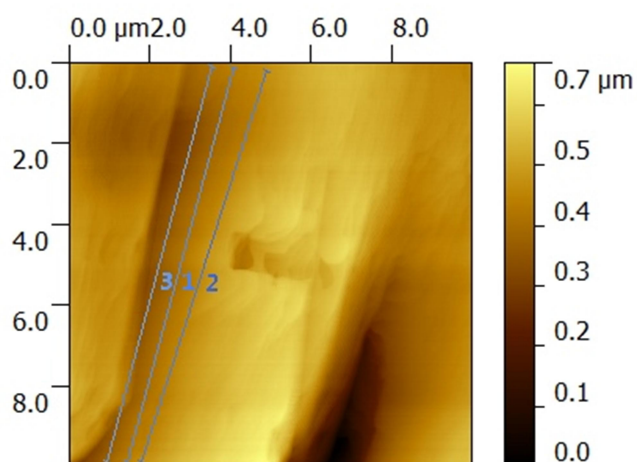
ŠARŽE DL181203-01:



Obrázek 15: Práškový vzorek šarže DL181203-01 pod mikroskopem atomárních sil připevněný na oboustranné transparentní pásce - nejtmaší odstín představuje krystaly

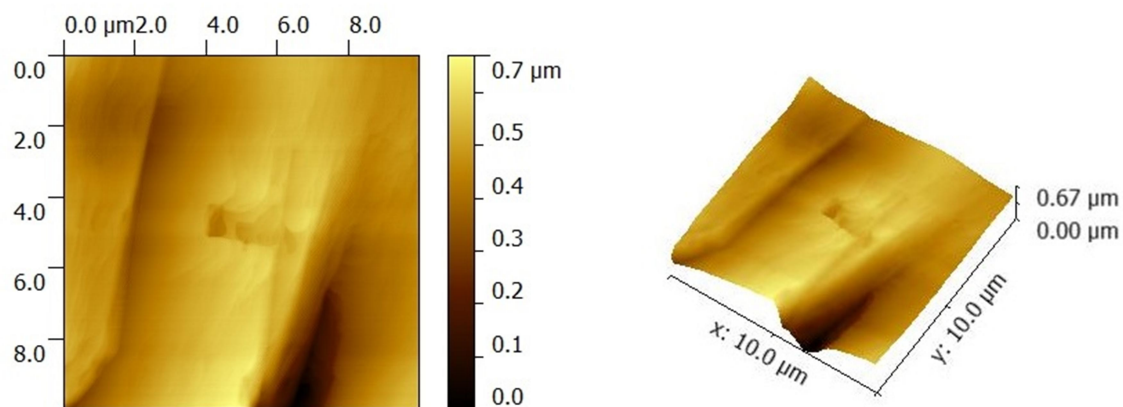
Tabulka 5: Výsledky měření AFM šarže DL181203-01

DL181203-01	R_a (nm)	$\overline{R_a}$ (nm)
Linie 1	2,2	
Linie 2	2,2	2,6
Linie 3	3,4	



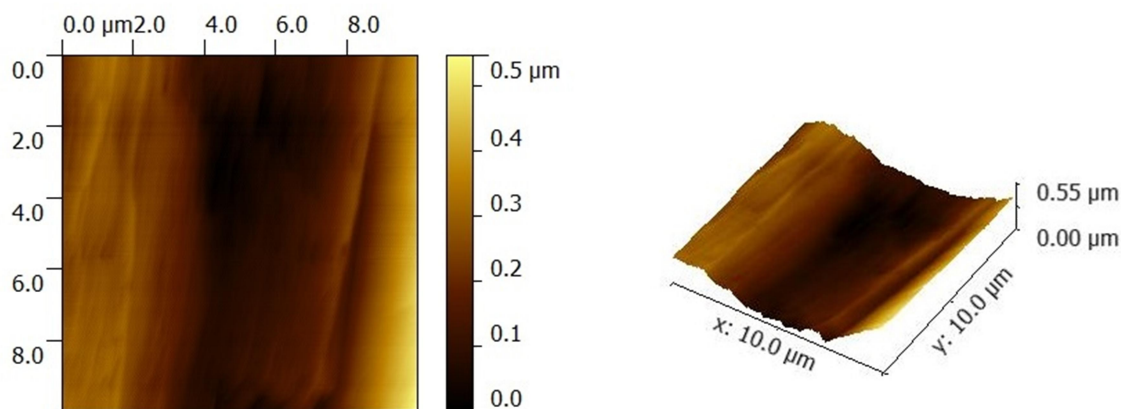
Obrázek 16: Vzorek šarže DL181203-01 při měření drsnosti v linii

Výsledné topografie šarže DL181203-01 pořízené pomocí AFM:



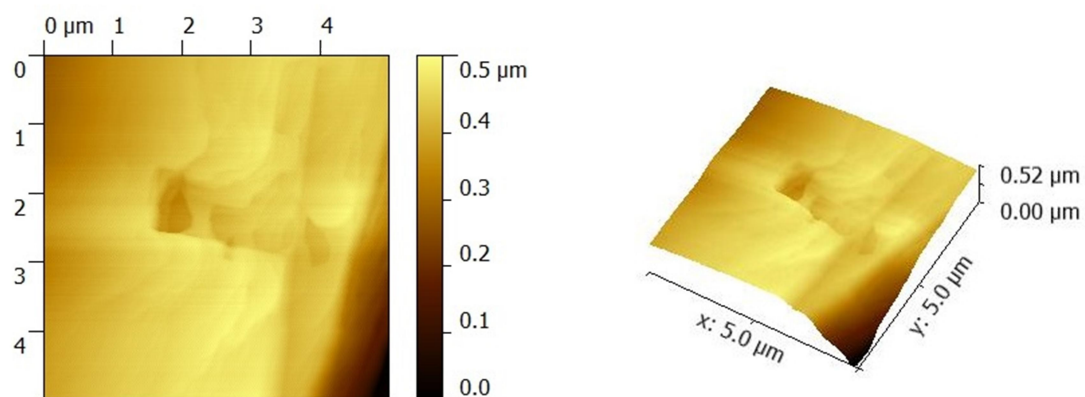
NCG DL 181203-01

Obrázek 17: Výsledná topografie (1) šarže DL181203-01; pořízeno v CNT při VŠB-TUO



NCG DL 181203-01

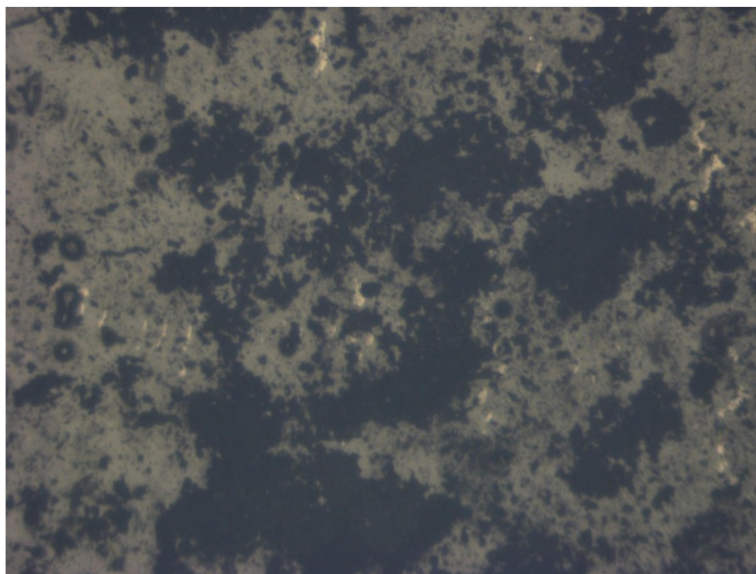
Obrázek 18: Výsledná topografie (2) šarže DL181203-01; pořízeno v CNT při VŠB-TUO



NCG DL 181203-01

Obrázek 19: Výsledná topografie (3) šarže DL181203-01; pořízeno v CNT při VŠB-TUO

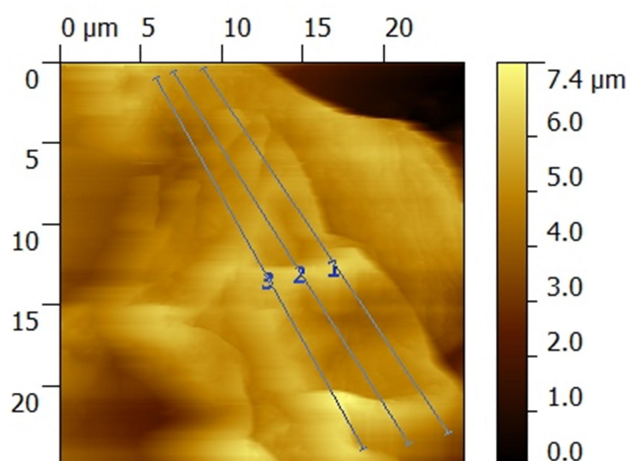
ŠARŽE DL190124-01-2:



Obrázek 20: Práškový vzorek šarže DL190124-01-2 pod mikroskopem atomárních sil připevněný na oboustranné transparentní pásce - nejtmaší odstín představuje krystaly

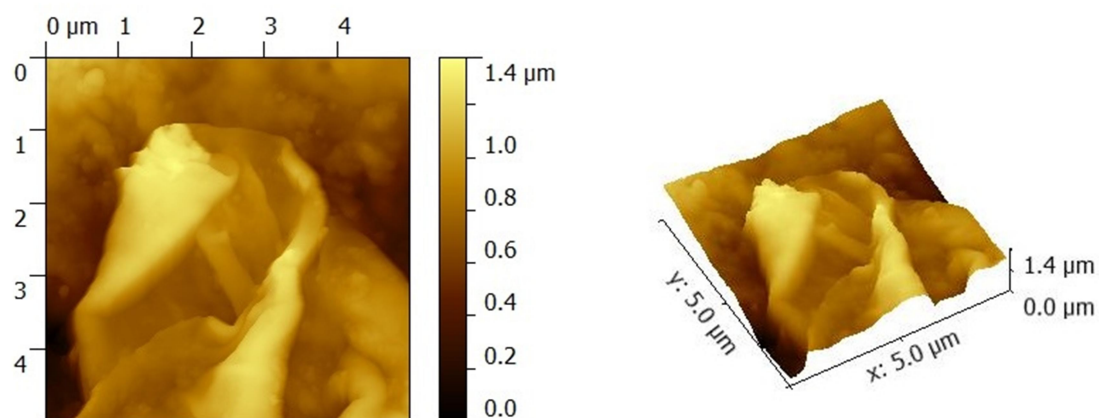
Tabulka 6: Výsledky měření AFM šarže DL190124-01-2

DL190124-01-2	R_a (μm)	$\overline{R_a}$ (μm)
Linie 1	0,159	0,130
Linie 2	0,125	
Linie 3	0,108	



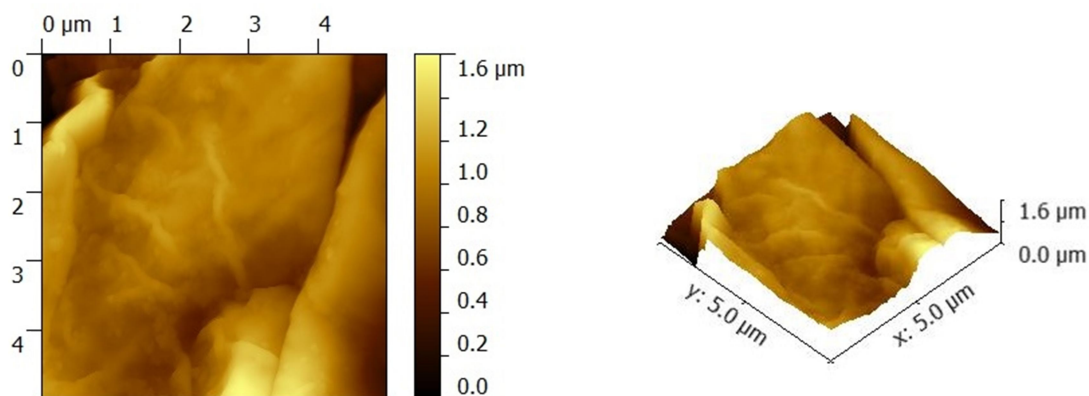
Obrázek 21: Vzorek šarže DL190124-01-2 při měření drsnosti v linii

Výsledné topografie šarže DL190124-01-2 pořízené pomocí AFM:



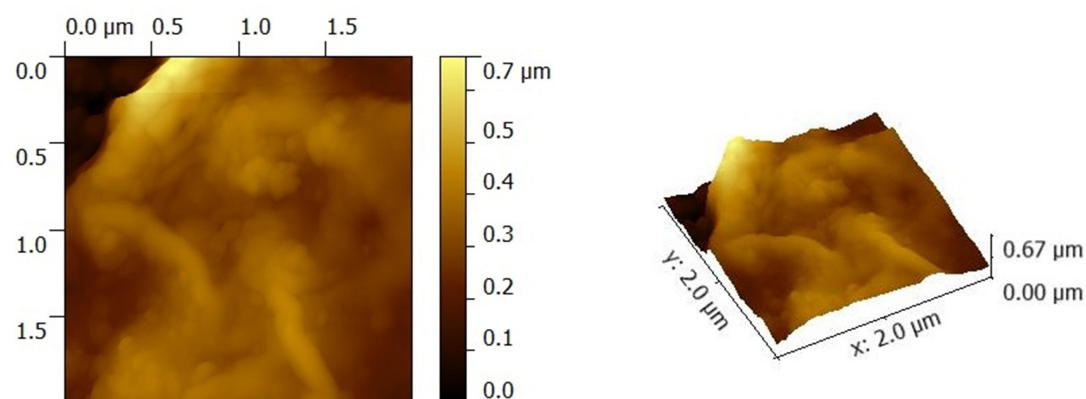
NCG DL 190124-01-2

Obrázek 22: Výsledná topografie (1) šarže DL190124-01-2; pořízeno v CNT při VŠB-TUO



NCG DL 190124-01-2

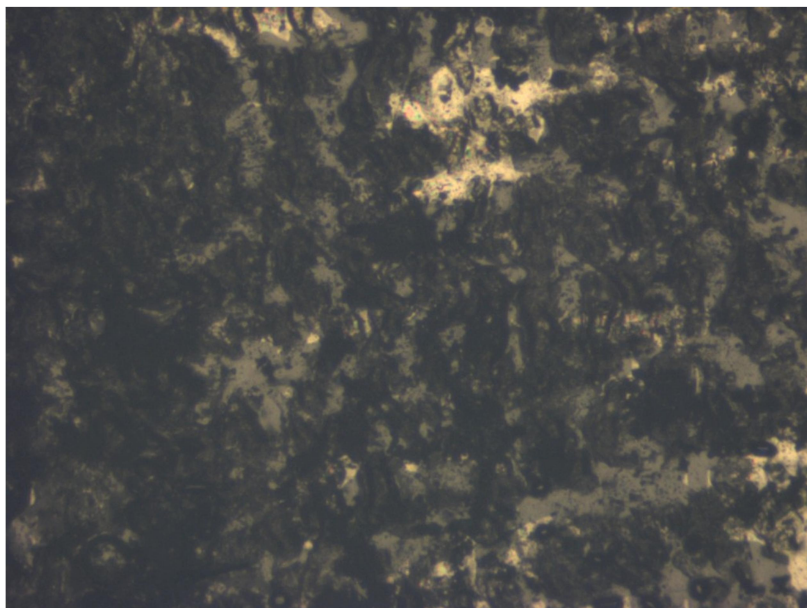
Obrázek 23: Výsledná topografie (2) šarže DL190124-01-2; pořízena v CNT při VŠB-TUO



NCG DL 190124-01-2

Obrázek 24: Výsledná topografie (3) šarže DL190124-01-2; pořízena v CNT při VŠB-TUO

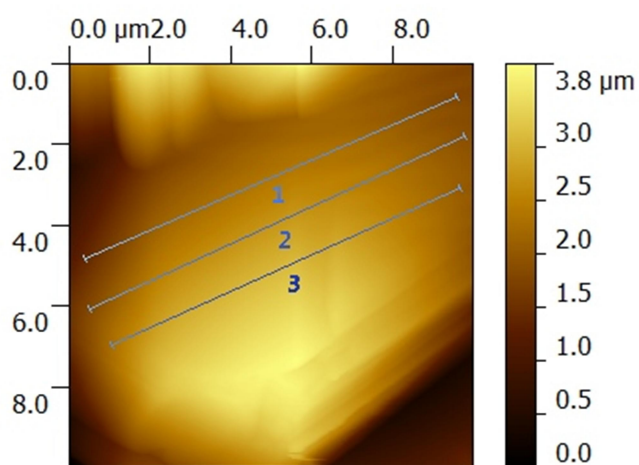
ŠARŽE DL180905-01:



Obrázek 25: Práškový vzorek šarže DL180905-01 pod mikroskopem atomárních sil připevněný na oboustranné transparentní pásce - nejtmaší odstín představuje krystaly

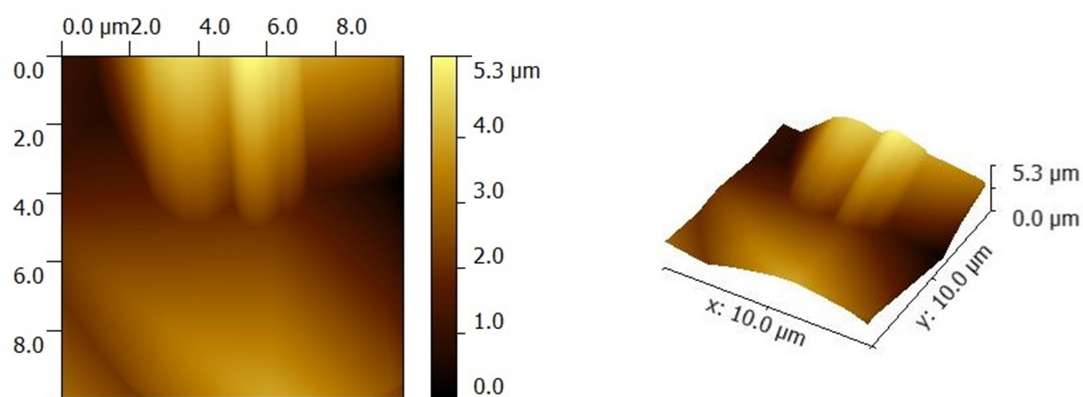
Tabulka 7: Výsledky měření AFM šarže DL180905-01

DL180905-01	R_a (μm)	$\overline{R_a}$ (μm)
Linie 1	0,006	
Linie 2	0,013	0,011
Linie 3	0,014	



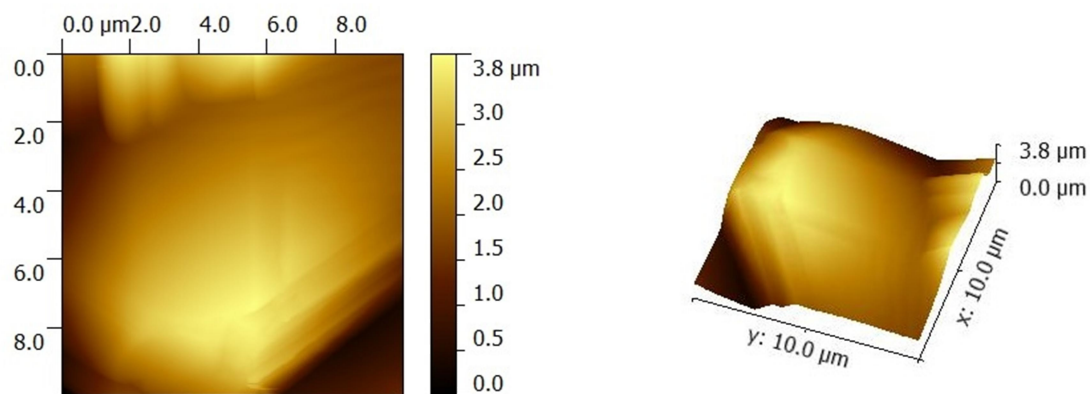
Obrázek 26: Vzorek šarže DL180905-01 při měření drsnosti v linii

Výsledné topografie šarže DL180905-01 pořízené pomocí AFM:



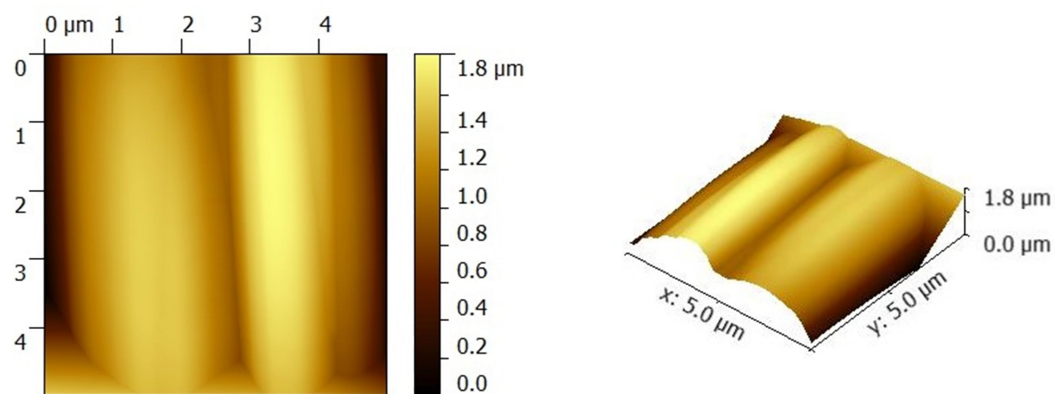
NCG DL 180905-01

Obrázek 27: Výsledná topografie (1) šarže DL180905-01; pořízena v CNT při VŠB-TUO



NCG DL 180905-01

Obrázek 28: Výsledná topografie (2) šarže DL180905-01; pořízena v CNT při VŠB-TUO

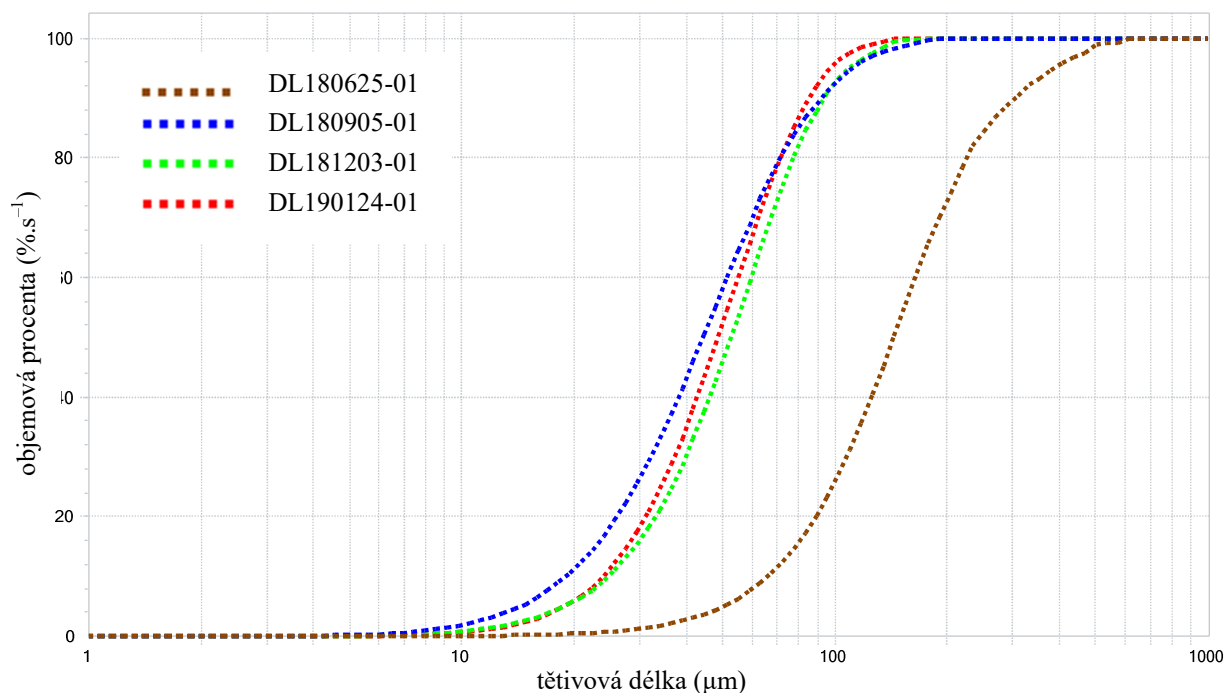


NCG DL 180905-01

Obrázek 29: Výsledná topografie (3) šarže DL180905-01; pořízena v CNT při VŠB-TUO

4.2.6 Distribuce velikosti částic měřená pomocí laserové sondy

Z distribučních křivek jednotlivých šarží lze sledovat podobnost, respektive odlišnost velikostí krystalů připravovaného materiálu. Výrazně se od ostatních sledovaných šarží liší šarže DL180625-01, která byla připravena očkováním za použití 3 hm% upraveného očkovacího materiálu. Postup přípravy viz Šarže DL180625-01.

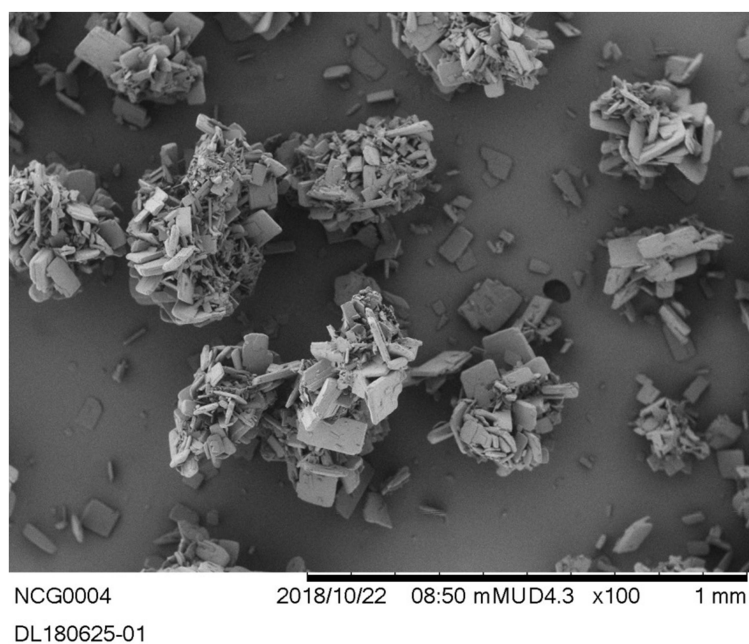


Obrázek 30: Kumulativní křivka distribuce velikosti částic z FBRM sondy; pořízeno v TCI

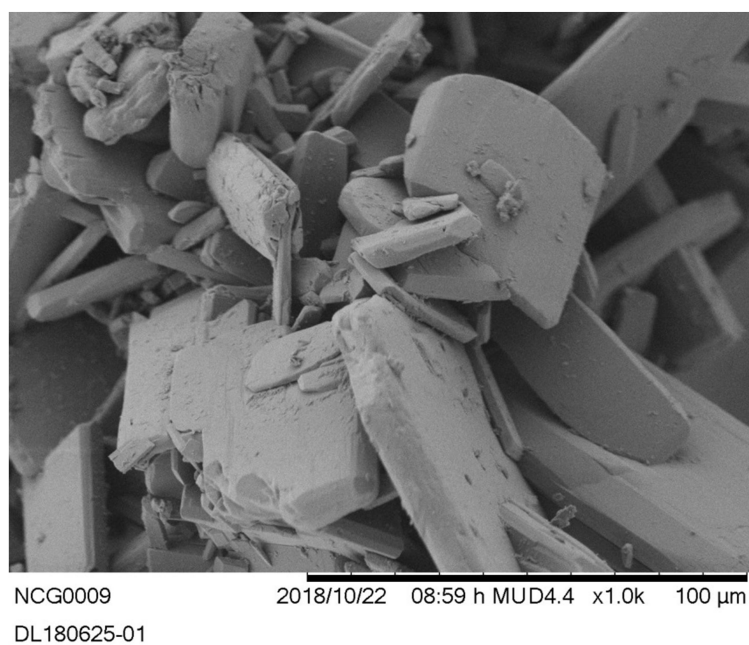
4.2.7 Snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu

Odlišný tvar, velikost krystalů a tvorbu aglomerátů lze pozorovat na snímcích ze skenovacího elektronového mikroskopu. Snímky všech čtyř šarží jsou vyobrazeny při zvětšení 100x a 1000x. U šarže DL180625-01 připravené očkováním jsou krystaly ve tvaru destiček, objevují se i krystaly ve tvaru tyčinek a shlukují se do aglomerátů. Šarže DL181203-01 připravená pomocí ultrazvukové sondy se skládá z menších krystalů, než předchozí šarže, a aglomeráty se netvoří. Krystaly mají tvar destiček a na povrchu větších krystalů se nacházejí menší. Tvar zaoblených krychlíček nebo kvádrů je patrný u šarže DL190124-01-2, která byla připravena pomocí ultrazvukové průtočné cely. Krystaly ve tvaru destiček s mnoha malými krystaly na povrchu obsahuje krystalický materiál šarže DL180905-01 připravený za pomoci keramických kuliček Zirmil Y[®].

Snímky šarže DL180625-01 pořízené pomocí SEM:

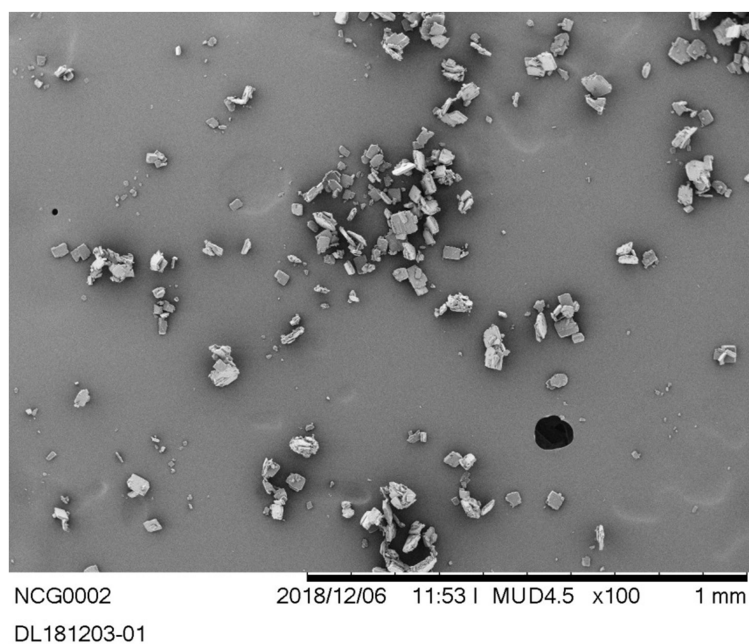


Obrázek 31: Šarže DL180625-01 pod SEM při zvětšení x100; pořízeno v TCI

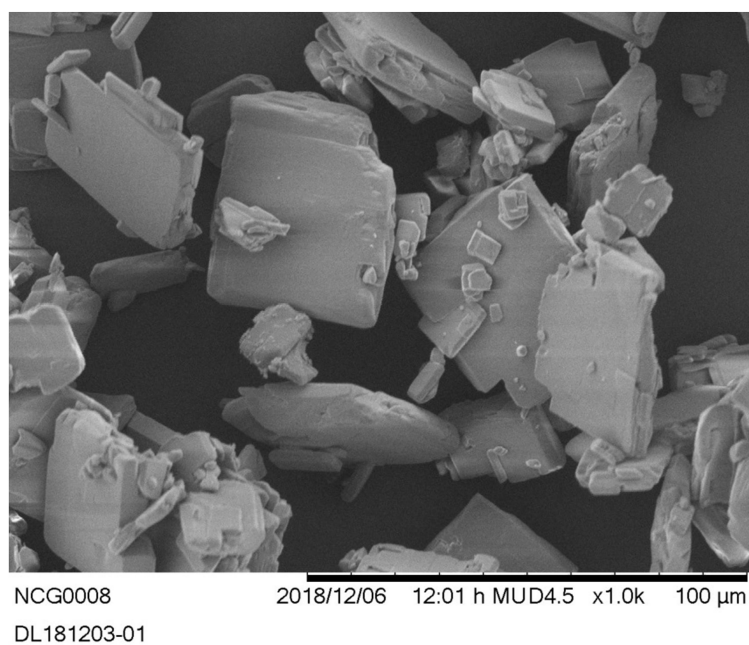


Obrázek 32: Šarže DL180625-01 pod SEM při zvětšení x1000; pořízeno v TCI

Snímky šarže DL181203-01 pořízené pomocí SEM:

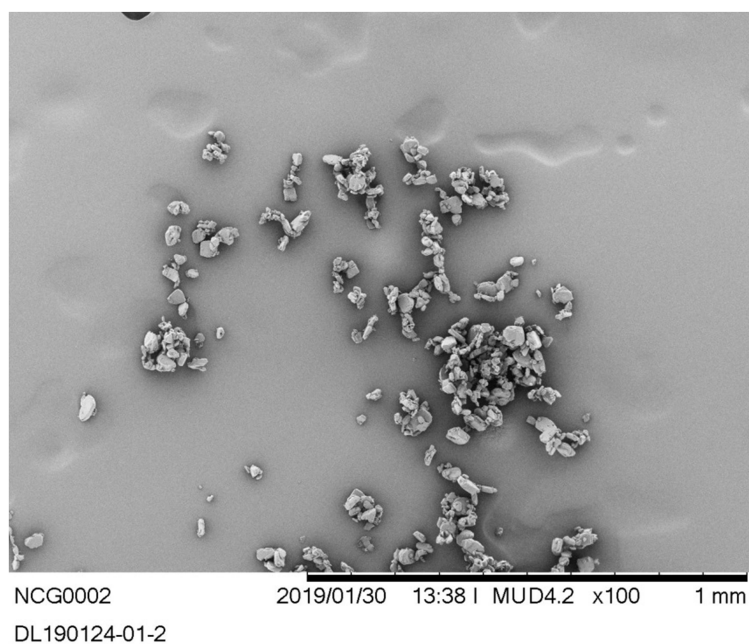


Obrázek 33: Šarže DL181203-01 pod SEM při zvětšení x100; pořízeno v TCI

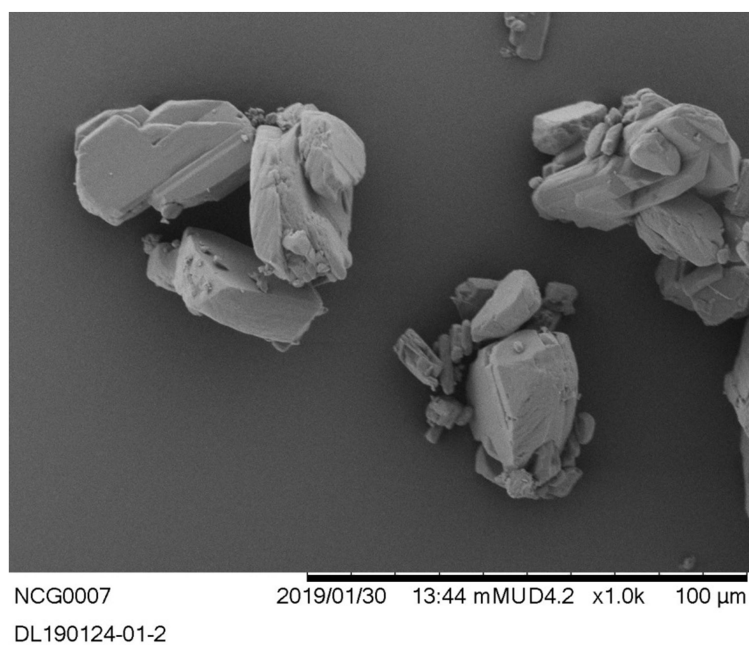


Obrázek 34: Šarže DL181203-01 pod SEM při zvětšení x1000; pořízeno v TCI

Snímky šarže DL190124-01-2 pořízené pomocí SEM:

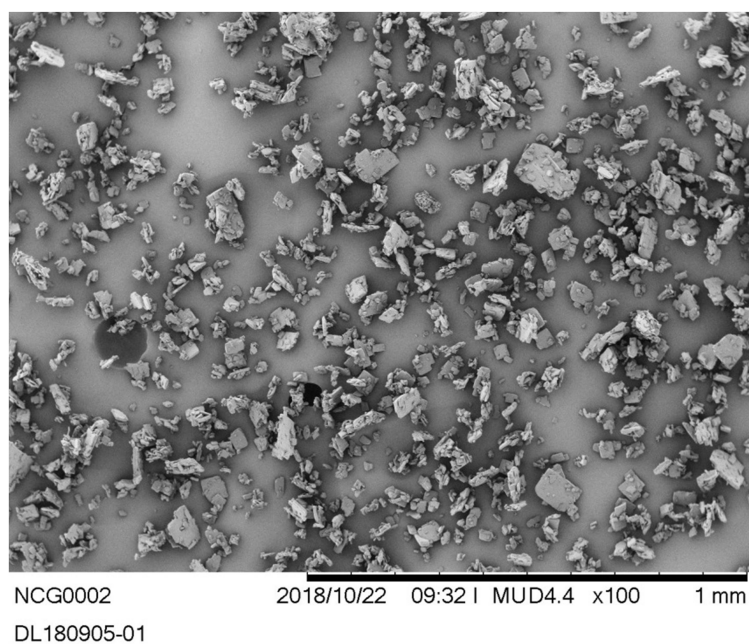


Obrázek 35: Šarže DL 190124-01-2 pod SEM při zvětšení x1000; pořízeno v TCI

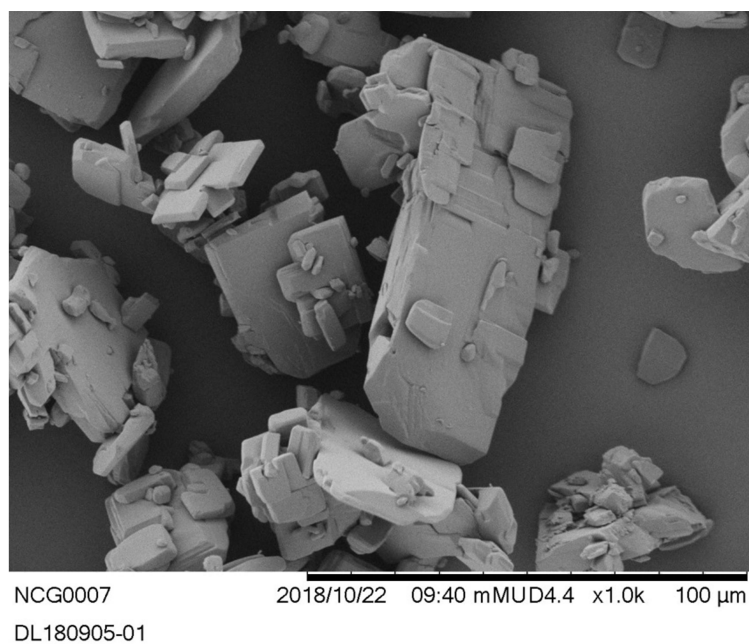


Obrázek 36: Šarže DL190124-01-2 pod SEM při zvětšení x1000; pořízeno v TCI

Snímky šarže DL180905-01 pořízené pomocí SEM:



Obrázek 37: Šarže DL180905-01 pod SEM při zvětšení x100, pořízeno v TCI



Obrázek 38: Šarže DL180905-01 pod SEM při zvětšení x1000; pořízeno v TCI

4.2.8 Povrchová energie krystalů

Rozdílnost povrchové energie je patrná z grafu závislosti velikosti povrchové energie na pokrytí. Acidobazická složka (γ_{ab}) je vzhledem k disperzní (γ_d) zanedbatelná a je u všech šarží téměř stejná. Při určení celkové povrchové energie (γ_t) hraje dominantní roli disperzní složka.

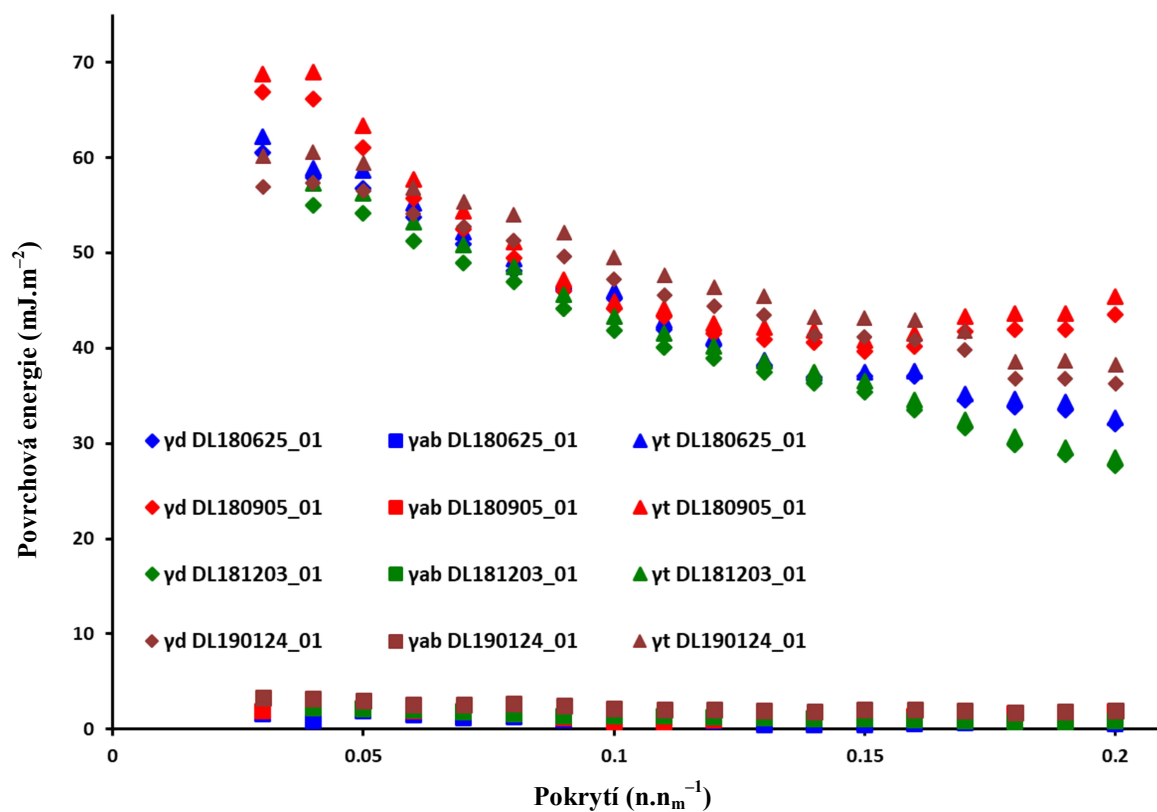
U všech vzorků je sestupný trend povrchové energie v závislosti na pokrytí. Pouze u šarže DL180905-01 se od pokrytí 0,15 povrchová energie zvyšuje. Zvýšení povrchové energie je zřejmě způsobeno chybou měření. Disperzní složka povrchové energie je vyznačena na grafu závislosti disperzní složky povrchové energie na pokrytí, viz *Obrázek 40*. Při pokrytí 0,2 má největší hodnotu disperzní složky povrchové energie šarže DL 180905-01, připravená pomocí keramických kuliček Zirmil® Y.

V tabulce, viz *Tabulka 8*, jsou zapsány hodnoty měření u jednotlivých šarží. Jsou uvedeny maximální a minimální hodnoty acidobazických a disperzních příspěvků a hodnoty celkové povrchové energie. Sloupec „*rozdíl*“ značí rozdíl mezi každou maximální a minimální hodnotou dané veličiny. Čím je rozdíl mezi naměřenými hodnotami menší, tím více je povrch homogenní. To platí asi jenom do 20 % pokrytí.

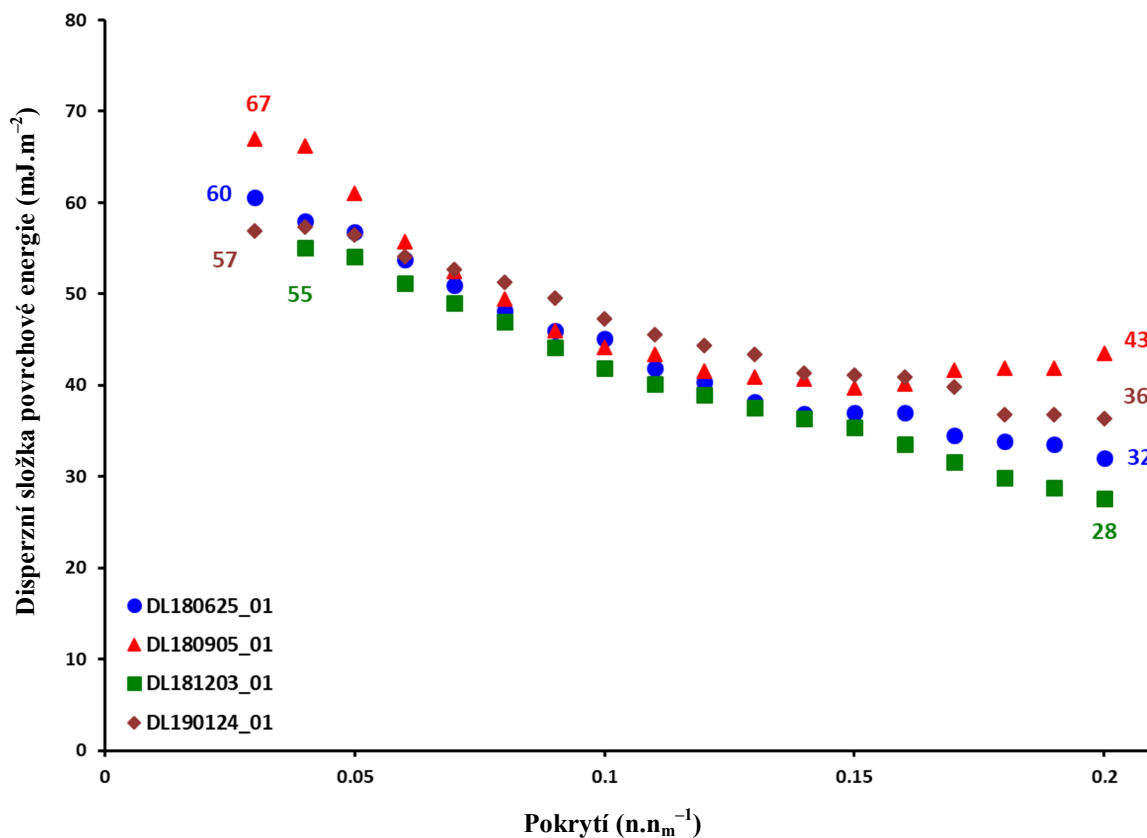
Nejmenší rozdíl celkové povrchové energie má šarže DL190124-01-2, připravená pomocí ultrazvukové průtočné cely a činí $21,9 \text{ mJ.m}^{-2}$. Je tak z hlediska povrchové energie nejvíce homogenní šarží. Největší hodnotu rozdílu celkové povrchové energie má šarže DL180625-01, připravená očkováním. Hodnota rozdílu celkové povrchové energie činí $29,5 \text{ mJ.m}^{-2}$. Nejvíce homogenní šarží je tedy šarže DL190124-01-2, připravená pomocí ultrazvukové průtočné cely.

Tabulka 8: Maximální a minimální hodnoty povrchové energie jednotlivých složek

Šarže	$\gamma_d (\text{mJ.m}^{-2})$			$\gamma_{ab} (\text{mJ.m}^{-2})$			$\gamma_t (\text{mJ.m}^{-2})$		
	max.	min.	rozdíl	max.	min.	rozdíl	max.	min.	rozdíl
DL180625-01	60,6	32,1	28,5	1,6	0,6	1,0	62,2	32,7	29,5
DL181203-01	55,0	27,6	27,4	2,2	0,9	1,4	57,3	28,5	28,7
DL190124-01-2	56,9	36,3	20,6	3,3	1,9	1,4	60,2	38,2	21,9
DL180905-01	66,9	43,5	23,4	1,9	1,9	0,0	68,8	45,4	23,4



Obrázek 39: Závislost složek celkové povrchové energie na pokrytí



Obrázek 40: Disperzní složka povrchové energie v závislosti na pokrytí

4.3 Porovnání výsledků mezi šaržemi připravenými očkovaním

V této kapitole jsou uvedeny výsledky analýz všech šarží, které byly připraveny očkovaním. Pro porovnání těchto šarží slouží výtěžek, obsah zbytkového acetonu, schopnost tečení, distribuce velikosti částic z analýzy PSD a snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu. Výsledky jsou uspořádány v následující tabulce, viz *Tabulka 9*.

Tabulka 9: Výsledky analýz šarží připravených pomocí očkování

Očkování		Výtěžek (%)	aceton (ppm)	ff (-)	PSD (μm)		
					D(10)	D(50)	D(90)
DL180605-01	<i>očkování 3 hm%</i>	68,93	678	-	29	105	223
DL180607-01	<i>očkování 3 hm%</i>	66,41	467	-	29	90	173
DL180611-01	<i>očkování 10 hm%</i>	66,64	404	-	24	80	161
DL180614-01	<i>očkování 20 hm%</i>	68,17	281	-	4	21	54
DL180625-01	<i>očkování 3 hm%</i>	82,90	337	3,34	9	44	96
DL181123-01	<i>očkování 10 hm%</i>	71,73	376	-	8	35	90
DL181127-01	<i>očkování 1 hm%</i>	70,59	746	-	36	96	183
DL181206-01	<i>očkování 40 hm%</i>	72,64	364	2,03	2	12	48

Při krystalizaci očkovaním bylo měněno množství očkovacího materiálu a v některých případech také velikost krystalů očkovacího materiálu. Očkování probíhalo u všech šarží při stejné teplotě 37 °C. Největšího výtěžku je dosaženo u šarže DL180625-01, která byla naočkována 3 hm% šarží, jejíž očkovací materiál byl upraven v kulovém mlýně a přesítován přes síto o velikosti ok 100 μm.

V obsahu zbytkového acetonu se šarže, připravené očkovaním, lišily výrazněji než u šarží připravených pomocí ultrazvuku. Nejmenší obsah zbytkového acetonu (281 ppm) obsahuje šarže DL180614-01, naočkována 20 hm% očkovacího materiálu. Největší obsah zbytkového acetonu (746 ppm) vykazuje šarže DL181127-01, která byla naočkována nejmenším množstvím krystalického materiálu – 1 hm%. Je zde nepřímá závislost mezi množstvím očkovacího materiálu a výsledným obsahem zbytkového acetonu. Čím menší množství očkovacího materiálu, tím větší obsah zbytkového acetonu v připravené šarži.

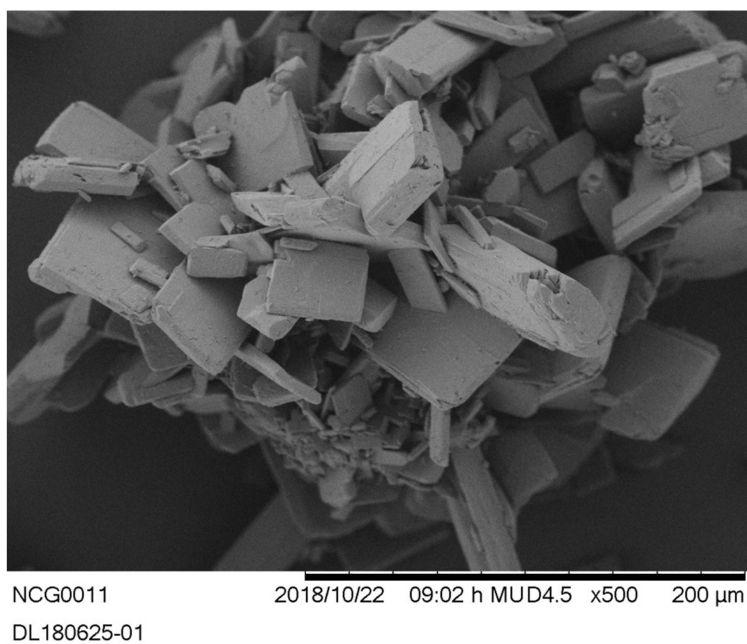
Tokové vlastnosti byly změřeny u dvou šarží. Šarže DL180625-01 s největším výtěžkem, která byla naočkována 3 hm%, se svými tokovými vlastnostmi řadí do skupiny materiálů s kohezivními tokovými vlastnostmi. Druhá šarže DL 181206-01, naočkována

masivním množstvím, se tokovými vlastnostmi nachází na rozhraní mezi velmi kohezivním a kohezivním materiálem.

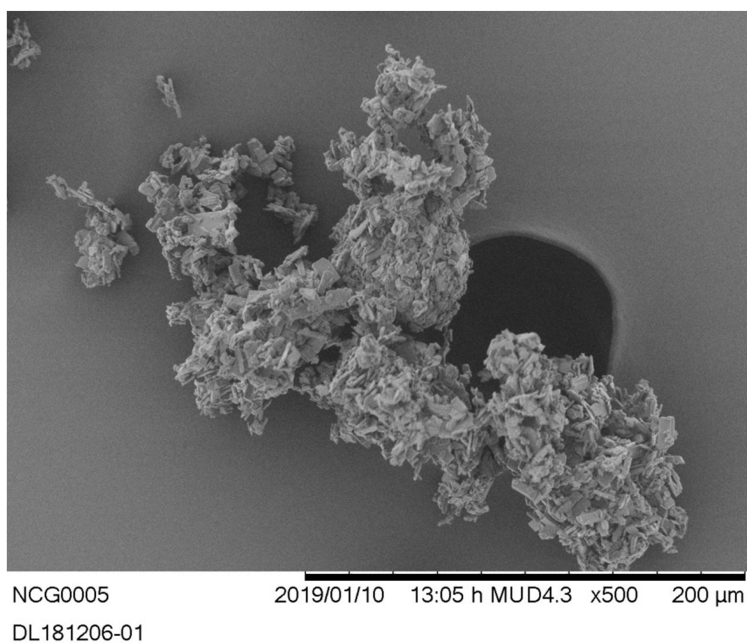
U distribuce velikosti částic si lze všimnout vlivu množství a velikosti krystalů očkovacího materiálu ještě více. Šarže DL180605-01, DL180607-01 a DL180611-01 byly naočkovány nepřesítovaným očkovacím materiálem, a to se projevilo u distribuce velikosti částic. Parametr $D(90)$ u těchto šarží překročil velikost krystalů $150\text{ }\mu\text{m}$. U šarže DL180605-01 je parametr $D(90)$ největší a činí $223\text{ }\mu\text{m}$. Nejmenší distribuce velikosti částic bylo dosaženo u šarží, které byly naočkovány masivním množstvím. U šarže DL181206-01 je parametr $D(10)$ pouze $2\text{ }\mu\text{m}$ a u šarže DL180614-01 je parametr $D(10)$ $4\text{ }\mu\text{m}$. Obě šarže se nejvíce blíží specifikaci ve všech třech parametrech velikosti distribuce částic. Množství očkovacího materiálu ale představuje problém ve výrobním měřítku, protože masivní množství očkovacího materiálu může znamenat i několik desítek kilogramů, které je nutné uchovávat a následně pomoci něho naočkovat krystalizační roztok.

Rozlišnost připravených šarží demonstrují snímky pořízené SEM při stejném zvětšení. Krystaly šarže DL180625-01 mají tvar destiček a jsou uskupeny do aglomerátů. Plochy krystalů obsahují defekty a nacházejí se na nich menší krystaly. Krystaly šarže DL181206-01 jsou menší, shlukují se také do aglomerátů a některé krystaly mají tvar tyčinek nebo kvádrů.

Snímky šarží DL180625-01 a DL181206-01 pořízené pomocí SEM:



Obrázek 41: Šarže DL180625-01 pod SEM při zvětšení x500; pořízeno v TCI



Obrázek 42: Šarže DL181206-01 pod SEM při zvětšení x500; pořízeno v TCI

4.4 Porovnání výsledků mezi šaržemi připravenými pomocí ultrazvuku

V této kapitole jsou uvedeny výsledky analýz všech šarží, které byly připraveny pomocí ultrazvuku. Pro porovnání těchto šarží slouží výtěžek, obsah zbytkového acetonu, schopnost tečení, distribuce velikosti částic z analýzy PSD a snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu. Výsledky jsou uspořádány v následující tabulce, viz *Tabulka 10*.

Tabulka 10: Výsledky analýz šarží připravených pomocí ultrazvuku

Ultrazvuková sonda		Výtěžek (%)	aceton (ppm)	ff (-)	PSD (μm)		
					D(10)	D(50)	D(90)
DL180618-01	<i>sonikace 15 min.</i>	72,40	435	-	29	84	159
DL180619-01	<i>sonikace 3 min.</i>	69,30	443	3,19	33	95	181
DL180621-01	<i>sonikace 30 min.</i>	72,87	432	-	13	43	103
DL181122-01	<i>sonikace 5 min.</i>	69,50	513	-	15	48	97
DL181203-01	<i>sonikace 30 min.</i>	69,20	684	7,27	15	38	70
Ultrazvuková cela							
DL190108-01-2	<i>sonikace 60 min.</i>	-	764	3,67	14	43	85
DL190110-01-2	<i>sonikace 60 min.</i>	-	432	2,83	10	35	78
DL190124-01-2	<i>sonikace 120 min.</i>	-	670	3,40	14	30	54

Pro iniciaci nukleace pomocí ultrazvuku byla použita ultrazvuková sonda a také ultrazvuková průtočná cela. Nicergolin, získaný pomocí ultrazvuku se co do výtěžku výrazně neliší. Při všech experimentech bylo dosaženo výtěžku okolo 70 %. U krystalizace s průtočnou ultrazvukovou celou bylo z provozních důvodů obtížné výtěžek sledovat, a proto zde není uveden.

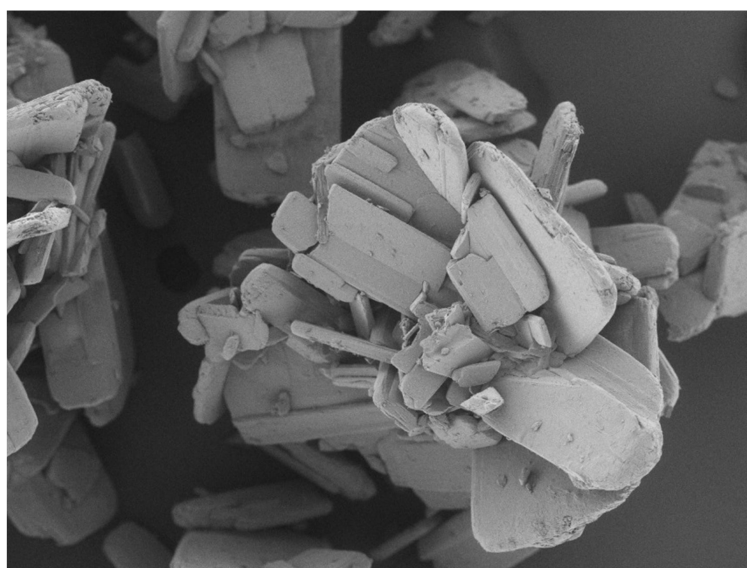
Žádná z vyrobených šarží nepřekročila limit pro obsah zbytkového acetonu. Všechny obsahovaly méně než 1/3 limitu, který je stanoven na 3000 ppm. Nejmenší obsah zbytkového acetonu vykazují šarže DL180621-01 a DL190110-01-2, konkrétně 432 ppm. Nejvíce acetonu, 684 ppm, obsahuje šarže DL181203-01, která měla nejlepší výsledek tokových vlastností.

S faktorem tečení 7,27 se řadí do skupiny materiálů, které tečou snadno. Ostatní změřené šarže se s faktory tečení řadí do skupiny s kohezivními tokovými vlastnostmi.

Větší rozdíly mezi připravenými šaržemi jsou ve velikosti distribuci částic. Distribuce velikosti částic nejvíce vyhovuje specifikaci u šarže DL190124-01-2, která byla připravena pomocí ultrazvukové průtočné cely a ultrazvuku byla vystavena po dobu 120 minut. Naopak největší distribuci velikosti částic vykazovala šarže DL180619-01, která byla sonikována ultrazvukovou sondou po dobu 3 minut. V parametru D(90) lze sledovat závislost mezi dobou iniciace a velikostí krystalů. Čím kratší doba sonikace, tím větší parametr D(90).

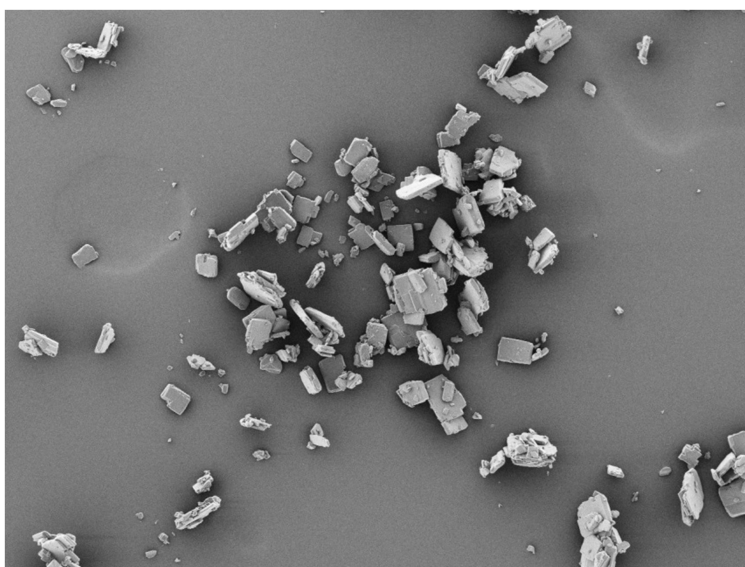
Rozdílnost ve velikosti krystalů a v habitu výsledných krystalů lze vidět na snímcích ze SEM, které byly pořízeny se stejným zvětšením. Šarže DL180619-01, která byla ultrazvukem iniciována po dobu 3 minut má oproti šarži DL181203-01 větší krystaly, které se shlukují do aglomerátů. Krystaly jsou destičkového tvaru se zaoblenými hranami a rohy. Šarže DL181203-01 má krystaly menší a bez aglomerátů. Pro srovnání jsou zde uvedeny také snímky dvou šarží z ultrazvukové průtočné cely. U šarže DL190110-01-2 se vyskytují nepravidelné tvary, na povrchu větších krystalech jsou menší krystaly. Krystaly šarže DL190124-01-2 jsou svým tvarem podobné krychličkám a kvádrům se zaoblenými hranami a rohy.

**Snímky šarží připravených ultrazvukovou sondou DL180619-01 a DL181203-01
pořízené pomocí SEM:**



NCG0003 2018/06/25 11:42 mL U x200 500 µm
DL180619-01

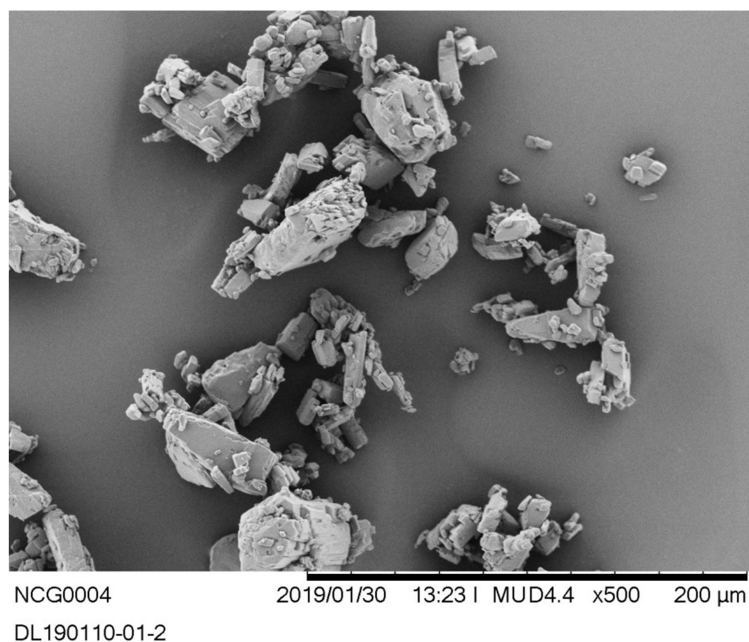
Obrázek 43: Šarže DL180619-01 pod SEM při zvětšení x200; pořízeno v TCI



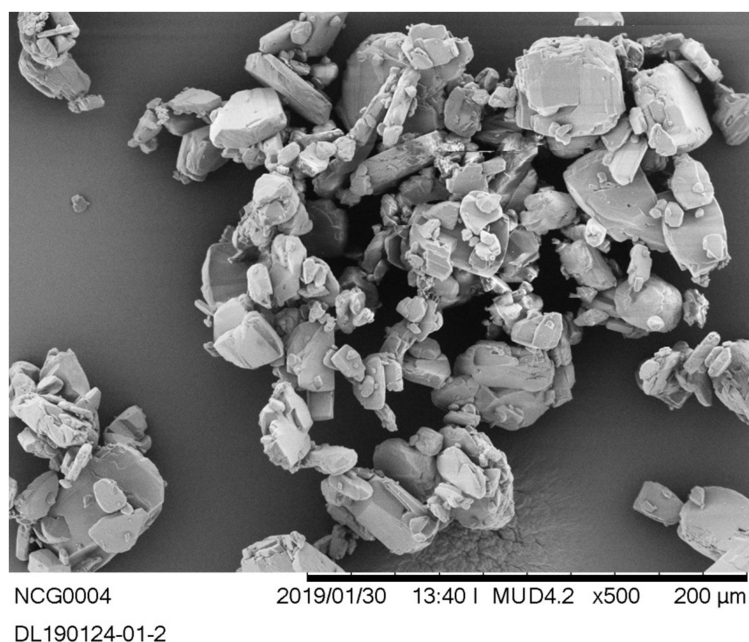
NCG0003 2018/12/06 11:54 I MUD4.5 x200 500 µm
DL181203-01

Obrázek 44: Šarže DL181203-01 pod SEM při zvětšení x200; pořízeno v TCI

**Snímky šarží připravených ultrazvukovou celou DL190110-01-02 a DL190124-01-2
pořízené pomocí SEM:**



Obrázek 45: Šarže DL190110-01-2 pod SEM při zvětšení x500; pořízeno v TCI



Obrázek 46: Šarže DL190124-01-2 pod SEM při zvětšení x500; pořízeno v TCI

4.5 Porovnání výsledků mezi šaržemi připravenými za pomoci templátů

V této kapitole jsou uvedeny výsledky analýz všech šarží, které byly připraveny za pomoci templátů. Pro porovnání šarží připravených za pomoci templátů slouží výtěžek, obsah zbytkového acetonu, schopnost tečení, distribuce velikosti částic z analýzy PSD a snímky ze skenovacího elektronového mikroskopu. Výsledky jsou uspořádány v následující tabulce, viz *Tabulka 11*.

Tabulka 11: Výsledky analýz šarží připravených za pomoci templátů

Zirmil® Y		Výtěžek (%)	aceton (ppm)	ff (-)	PSD (μm)		
					D(10)	D(50)	D(90)
DL180626-01	ø templátů 1,0 mm	68,33	309	-	7	20	41
DL180905-01	ø templátů 0,5 mm	39,43	521	3,35	12	17	41
DL181023-01	ø templátů 2,0 mm	79,27	317	-	8	21	45

Při krystalizaci za pomoci templátů byly použity keramické kuličky Zirmil® Y odlišných průměrů. Největšího výtěžku bylo dosaženo u templátů o velikosti 2,0 mm a to 79,27 %. Nejmenšího výtěžku bylo dosaženo při použití templátů o velikosti 0,5 mm, konkrétně 39,43 %, což však bylo způsobeno především špatnou a chybovou manipulací a ztrátou materiálu při procesu transportu do druhého reaktoru a při transportu k filtračnímu zařízení.

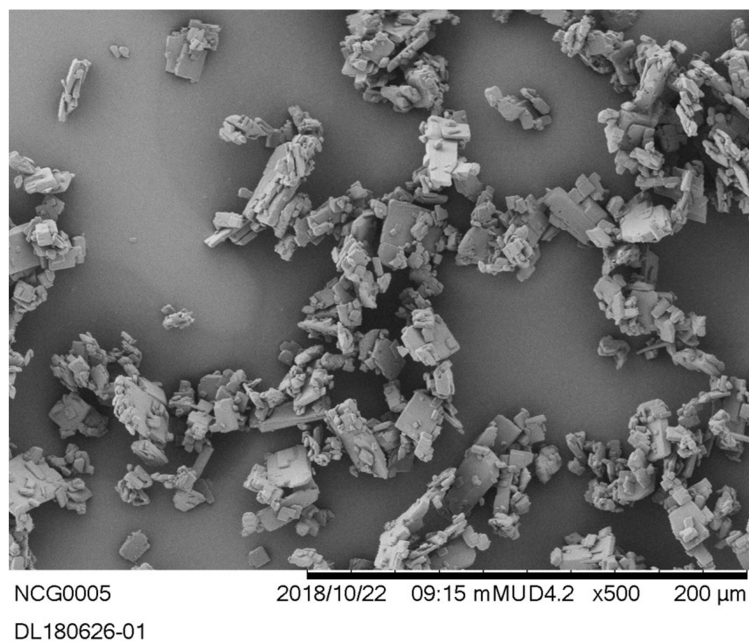
Ani u tohoto způsobu krystalizace nebyl překročen limit pro obsah zbytkového acetonu. Největší obsah zbytkového acetonu obsahuje šarže DL180905-01, konkrétně 521 ppm. Nejmenší hodnotu vykazuje šarže DL180626-01 s 309 ppm zbytkového acetonu.

Tokovými vlastnostmi s faktorem tečení 3,35 se šarže DL180905-01 řadí do skupiny kohezivních materiálů.

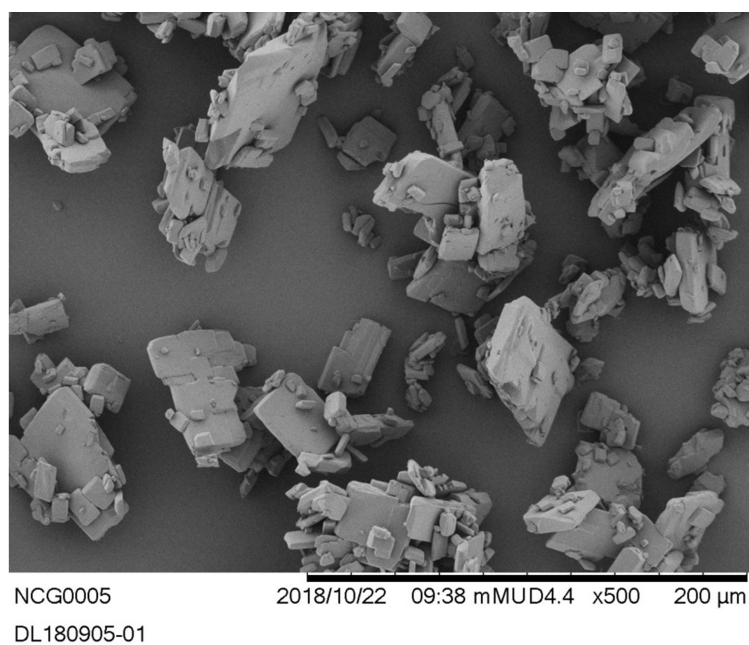
Z výsledků distribuce velikosti částic je patrné, že ze všech připravených šarží nejvíce odpovídají specifikaci. Pouze nepatrně byl u šarže DL180905-01 s hodnotou 12 μm překročen parametr D(10) a to pouze o 4 μm.

Při srovnání snímků ze SEM není při tvaru jednotlivých krystalů sledována velká odlišnost. Krystaly jsou deskovitého tvaru s malými defekty, menší krystaly se nacházejí na povrchu větších. Tvoří se aglomeráty. Výraznější odlišnost mezi zobrazenými šaržemi není pozorována.

Snímky šarží DL180626-01 a DL180905-01 pořízené pomocí SEM:



Obrázek 47: Šarže DL 180626-01 pod SEM při zvětšení x500; pořízeno v TCI



Obrázek 48: Šarže DL 180905-01 pod SEM při zvětšení x500; pořízeno v TCI

5 ZÁVĚR

Práce byla zaměřena na vliv sekundární nukleace na fyzikální a fyzikálně-chemické vlastnosti při krystalizaci aktivní farmaceutické substance – Nicergolinu.

V teoretické části diplomové práce byly popsány a představeny techniky, které se v současné době využívají při krystalizaci a následných analýzách ve farmaceutickém průmyslu. Byly vysvětleny mechanismy sekundární nukleace a přiblíženy některé parametry, které mohou mít vliv na konečné fyzikální a fyzikálně-chemické vlastnosti API látek.

V praktické části bylo čtyřmi krystalizačními způsoby, zahrnující sekundární nukleaci (očkováním, použitím ultrazvukové sondy, použitím ultrazvukové průtočné cely a za pomoci templátů) vyrobeno devatenáct šarží Nicergolinu. Vyrobené šarže byly následně charakterizovány pomocí technik, které jsou v současnosti běžné pro určení fyzikálních a fyzikálně-chemických vlastností aktivních farmaceutických substancí. Vlastnosti krystalického materiálu byly porovnány mezi vybranými šaržemi odlišných způsobů krystalizace a mezi jednotlivými šaržemi získanými stejným způsobem krystalizace. Bylo prokázáno, že změna krystalizačních podmínek při stejném způsobu krystalizace vede ke změně některých vlastností krystalického materiálu. Například doba sonikace ultrazvukem ovlivňuje nejen výslednou distribuci velikosti částic, ale také tokové vlastnosti materiálu. Velikost a množství očkovacího materiálu má za následek odlišné distribuce velikosti částic a má dopad na tvorbu aglomerátů.

Produkce krystalického materiálu lze dosáhnout i relativně novými způsoby, jako například použitím ultrazvukové průtočné cely nebo keramických kuliček. Takto připravený krystalický Nicergolin vykazoval vhodné aplikační vlastnosti. Použití ultrazvukové průtočné cely mělo za následek produkci krystalů s nejhladším povrchem. Použití templátů pro iniciaci nukleace se ukázalo jako nejlepší cesta pro požadovanou distribuci velikosti částic. Krystalický Nicergolin připravený za pomoci templátů obsahoval vůbec nejmenší množství zbytkového acetonu, což je pro výsledné použití klíčové.

Bylo prokázáno, že Nicergolin, získaný způsoby využívající sekundární nukleaci, vykazuje malý obsah zbytkového acetonu hluboce pod stanoveným limitem, krystaly mají dobře vyvinuté krystalové plochy. Některé šarže není potřeba dále upravovat, jelikož krystaly nevytvářely aglomeráty. Krystalický materiál je z pohledu distribuce velikosti částic homogenní a má dobré tokové vlastnosti. Pro produkci krystalů s požadovanými vlastnostmi je nutné dodržet několik parametrů jako například dobu sonikace, množství a velikost očkovacího materiálu.

Vytyčené cíle práce se podařilo splnit. Byly popsány a přiblíženy vlivy, které hrají významnou roli při krystalizaci s mechanismy sekundární nukleace, a mají zásadní dopad na výsledné fyzikální a fyzikálně-chemické vlastnosti získaného Nicergolinu. Bylo prokázáno, že i malé odlišnosti, jako například doba sonikace, vedou k odlišným vlastnostem krystalického prášku. I stejný krystalizační způsob při změně některých podmínek vede k odlišnostem vlastností vyrobeného krystalického materiálu. Existuje tedy přímá souvislost mezi změnou krystalizačních podmínek v jednotlivých způsobech krystalizace a výslednými vlastnostmi krystalů. Nové způsoby krystalizace, jako například použití ultrazvukové průtočné cely nebo templátů, jsou ve farmaceutickém průmyslu dobře použitelné a pomocí těchto technik lze získat materiál s požadovanými vlastnostmi. V neposlední řadě byly popsány analytické metody, které běžně slouží pro charakterizaci fyzikálních a fyzikálně-chemických vlastností aktivních farmaceutických látek.

6 SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

Zkratka	Význam
ff	Faktor tečení
ppm	Jedna miliontina celku
th.	Teorie
AFM	Mikroskopie atomárních sil
API	Aktivní farmaceutická látka
BSE	Detektor zpětně odražených elektronů
CNT	Centrum nanotechnologií
D(10)	10 % částic je větších než...
D(50)	50 % částic je větších než...
D(90)	90 % částic je větších než...
ECSN	Klasická nukleační teorie formování zárodků
FBRM	Technologie měření odrazu zaostřených paprsků
IUPAC	Mezinárodní unie pro čistou a užitou chemii
NMT	Ne více než...
PSD	Distribuce velikosti částic
RTG	Rentgenový detektor
SE	Detektor sekundárních elektronů
SEM	Skenovací elektronový mikroskop; Skenovací elektronová mikroskopie
SOP	Standardní operační postup
TCI	Teva Czech Industries s. r. o.
XR	Rentgenová prášková difrakce

7 SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ

Symbol	Význam	Jednotka
%	jedna setina celku	-
Δ	rozdíl množin	-
Ω	objem molekuly v krystalu	(m ³)
α	Povrchová volná energie nuklea	(J.m ⁻²)
γ_d	disperzní složka povrchové volné energie krystalu	(J.m ⁻²)
γ_t	celková povrchová volná energie krystalu	(J.m ⁻²)
γ_{ac}	acidobazická složka povrchové volné energie krystalu	(J.m ⁻²)
μ	chemický potenciál	(J.mol ⁻¹)
$\mu_{krystal}$	chemický potenciál molekuly v zárodečném krystalu	(J.mol ⁻¹)
μ_{roztok}	chemický potenciál přesyceného roztoku	(J.mol ⁻¹)
σ	normálové napětí	(Pa)
τ	smykové napětí	(Pa)
a	velikost hrany krychle	(m)
b	řád reakce	(s ⁻¹)
l	základní délka při měření střední aritmetické odchylky	(m)
m	základní linie při měření střední aritmetické odchylky	-
n	počet molekul v zárodku krystalu	-
n^*	kritická velikost nuklea	(m)
A	kinetický parametr úměrný počtu nukleačních jader	(J)
B	termodynamický parametr související s nukleační prací nutnou ke tvorbě jádra	(K)
A_{HEN}	kinetický parametr heterogenní nukleace	(J)
A_{HON}	kinetický parametr homogenní nukleace	(J)
B_{HEN}	termodynamický parametr heterogenní nukleace	(K)
B_{HON}	termodynamický parametr homogenní nukleace	(K)
B_V	rychlost růstu nukleace za jednotku času	(T ⁻¹)

C	koncentrace roztoku	(mol.l ⁻¹)
C^*	rozpustnost látky při teplotě daného roztoku	(mol.l ⁻¹)
G	Gibbsova volná energie	(J)
G_a	míra opotřebení krystalu	(m ³ .m ⁻¹)
G_r	kinetický růst krystalu	(m ³ .m ⁻¹)
$G_{ef.}$	efektivní růst krystalu	(m ³ .m ⁻¹)
$H_{cryst.}^\circ$	krystalizační entalpie	(J)
J	nukleační rychlost	(s ⁻¹)
K_N	konstanta růstu nukleace	-
L_P	velikost krystalů produktu	(m)
L_S	velikost oček	(m)
M_P	hmotnost produktu	(kg)
M_S	hmotnost oček	(kg)
R_a	střední aritmetickou odchylkou profilu	(μm)
$\overline{R_a}$	aritmetický průměr středních aritmetických odchylek profilů	(μm)
S	míra přesycení	-
S_P	povrch tělesa	(m ²)
S_{povrch}	specifický povrch	(m ² .g ⁻¹)

8 SEZNAM POUŽITÝCH JEDNOTEK

Znak	Jednotka	Veličina
°	úhlový stupeň	rovinný úhel
°C	Celsiův stupeň	teplota
μm	mikrogram	hmotnost
<i>g</i>	gram	hmotnost
g.cm^{-3}	gram na centimetr krychlový	hustota
g.mol^{-1}	gram na mol	koncentrace
kg.l^{-1}	kilogram na litr	sytná hustota
<i>kHz</i>	kilohertz	frekvence
<i>mg</i>	miligram	hmotnost
<i>mm</i>	milimetr	délka
m.s^{-1}	metr za sekundu	rychlost
mg.ml^{-1}	miligram na mililitr	koncentrace
ml.min^{-1}	mililitr za minutu	objemový průtok
<i>rpm</i>	otáčky za minutu	rychlost
<i>sccm</i>	standardní centimetr krychlový za minutu	průtok
<i>Hz</i>	hertz	frekvence
<i>HV1</i>	tvrdost dle Vickerse	tvrdost
<i>MPa</i>	megapascal	tlak
<i>W</i>	watt	výkon
W.cm^{-2}	watt vztažený na plochu	výkon

9 LITERATURA

- [1] LAMPA, Denis. *Optimalizace krystalizace aktivních farmaceutických substancí*. Ostrava, 2017. Bakalářská práce. Vysoká škola báňská - Technická univerzita Ostrava. Vedoucí práce Marek Večeř.
- [2] FERNANDEZ-NIEVES, Alberto a Antonio Manuel PUERTAS. *Fluids, Colloids, and Soft Materials: An Introduction to Soft Matter Physics*. Hoboken, New Jersey: Wiley, [2016]. ISBN 978-1118065624.
- [3] KRATOCHVÍL, Bohumil. Krystalizace farmaceutických substancí. *Chemické listy*. 2007, **101**(1), 3-12.
- [4] AGRAWAL, S. G. a A. H. J. PATERSON. Secondary Nucleation: Mechanisms and Models. *Chemical Engineering Communications*. 2015, **202**(5), 698-706. DOI: 10.1080/00986445.2014.969369. ISSN 0098-6445.
- [5] Ultrazvuková krystalizace laktosy. *Hielscher – Ultrazvuková technologie* [online]. [cit. 2019-04-11]. Dostupné z: <https://www.hielscher.com/cs/ultrasonic-lactose-crystallization.htm>
- [6] URBANUS, Johan, Jozua LAVEN, C. P. Mark ROELANDS, Joop H. TER HORST, Dirk VERDOES a Peter J. JANSSENS. *Template Induced Crystallization: A Relation between Template Properties and Template Performance*. 2009, **9**(6), 2762-2769. DOI: 10.1021/cg801402u. ISSN 1528-7483.
- [7] WILSON, Ian D., E. R. ADLARD, Michael COOKE a C. F. POOLE. *Encyclopedia of Separation Science*. San Diego: Academic Press, 2000. ISBN 978-0-12-226770-3.
- [8] VEKILOV, Peter G. Nucleation. *Crystal Growth & Design*. 2010, **10**(12), 5007-5019. DOI: 10.1021/cg1011633. ISSN 1528-7483.
- [9] SCHMELZER, J. W. P. Generalized Gibbs' Thermodynamics and Nucleation-Growth Phenomena. *Metastable Systems under Pressure*. Dordrecht: Springer, c2010, s. 389-402. ISBN 978-90-481-3406-9.
- [10] Nucleation. *Crystal Growth & Design: Perspective*. 2010, **10**, 5007-5019. DOI: 10.1021/cg1011633.
- [11] MULLIN, J. W. *Crystallization*. 4. Oxford: Reed Educational and Professional Publishing Ltd 2001, 2001. ISBN 0-7506-4833-3.

- [12] QIAN, Ru-Ying a Gregory D. BOTSARIS. A new mechanism for nuclei formation in suspension crystallizers: the role of interparticle forces. *Chemical Engineering Science*. 1997, **52**(20), 3429-3440. DOI: 10.1016/S0009-2509(97)89691-1. ISSN 00092509.
- [13] MOORE, Albert L. *Fluoroelastomers Handbook: The Definitive User's Guide and Databook*. Norwich, NY: William Andrew Pub., 2006. ISBN 978-0-8155-1517-3.
- [14] PANAGIOTOU, Thomai a Robert J. FISHER. Enhanced Transport Capabilities via Nanotechnologies: Impacting Bioefficacy, Controlled Release Strategies, and Novel Chaperones. *Journal of Drug Delivery*. 2011, **2011**, 1-14. DOI: 10.1155/2011/902403. ISSN 2090-3014.
- [15] O'GRADY, D., M. BARRETT, E. CASEY a B. GLENNON. The Effect of Mixing on the Metastable Zone Width and Nucleation Kinetics in the Anti-Solvent Crystallization of Benzoic Acid. *Chemical Engineering Research and Design*. 2007, **85**(7), 945-952. DOI: 10.1205/cherd06207. ISSN 02638762.
- [16] AYAZI SHAMLOU, P., A.G. JONES a K. DJAMARANI. Hydrodynamics of secondary nucleation in suspension crystallization. *Chemical Engineering Science*. 1990, **45**(5), 1405-1416. DOI: 10.1016/0009-2509(90)87134-E. ISSN 00092509.
- [17] LAL, D.P., R.E.A. MASON a R.F. STRICKLAND-CONSTABLE. Collision breeding of crystal nuclei. *Journal of Crystal Growth*. 1969, **5**(1), 1-8. ISSN 00220248.
- [18] TAI, C. Y., W. L. MCCABE a R. W. ROUSSEAU. Contact nucleation of various crystal types. *AIChE Journal*. 1975, **21**(2), 351-358. DOI: 10.1002/aic.690210217. ISSN 0001-1541.
- [19] DENK, Edward G. a Gregory D. BOTSARIS. Mechanism of contact nucleation. *Journal of Crystal Growth*. 1972, **15**(1), 57-60. DOI: 10.1016/0022-0248(72)90320-X. ISSN 00220248.
- [20] BAUER, L.G., M.A. LARSON a V.J. DALLONS. Contact nucleation of $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ in a continuous MSMR crystallizer. *Chemical Engineering Science*. 1974, **29**(5), 1253-1261. DOI: 10.1016/0009-2509(74)80125-9. ISSN 00092509.
- [21] ZHANG, Michael, Bao-Hua GUO a Jun XU. A Review on Polymer Crystallization Theories. *Crystals*. 2017, **7**(1). DOI: 10.3390/cryst7010004. ISSN 2073-4352.
- [22] YOUSUF, Mustafa a Patrick J. FRAWLEY. Experimental Evaluation of Fluid Shear Stress Impact on Secondary Nucleation in a Solution Crystallization of Paracetamol. *Crystal Growth & Design*. 2018, **18**(11), 6843-6852. DOI: 10.1021/acs.cgd.8b01074. ISSN 1528-7483.

- [23] LI, Jin-Song a Gerald WILEMSKI. Temperature Dependence of Droplet Nucleation in a Yukawa Fluid. *The Journal of Chemical Physics*. 2003, **118**(6), 2845-2852. DOI: 10.1063/1.1534830. ISSN 00219606.
- [24] MERSMANN, Alfons, Reinhard SANGEL, Matthias KIND a Joachim POHLISCH. Attrition and Secondary Nucleation in Crystallizers. *Chemical Engineering & Technology*. 1988, **11**(1), 80-88. DOI: 10.1002/ceat.270110112. ISSN 0930-7516.
- [25] MERSMANN, Alfons. *Crystallization technology handbook*. 2nd ed., rev. and expanded. New York: Marcel Dekker, 2001. ISBN 08-247-0528-9
- [26] TUNG, Hsien-Hsin. *Crystallization of Organic Compounds: An industrial perspective*. Hoboken, N.J.: Wiley, 2009. ISBN 978-0-471-46780-9.
- [27] ŠTENGL, Václav a Jan ŠUBRT. Výkonový ultrazvuk a jeho aplikace. *Chemické listy*. 2004, **98**(6), 324 - 327.
- [28] MULLIN, J. W. *Industrial Crystallization*. New York: Plenum Press, 1976. ISBN 978-1-4615-7260-2.
- [29] ŠVEHLA, Štefan a Zdenko FIGURA. *Ultrazvuk v technológii*. Bratislava: Alfa, 1984. Edícia elektrotechnickej literatúry (Alfa).
- [30] MISHRA, Chandan K., A. K. SOOD a Rajesh GANAPATHY. Site-specific colloidal crystal nucleation by template-enhanced particle transport. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2016, **113**(43), 12094-12098. DOI: 10.1073/pnas.1608568113. ISSN 0027-8424.
- [31] Zirmil[®] Y: *TECHNICAL DATA SHEET* [online]. [cit. 2019-03-21]. Dostupné z: https://www.zirpro.com/sites/imdf.zirpro.com/files/documents/zirpro-tds-zirmil_y-grinding_beads-201605-e.pdf.
- [32] CARTER, Matt a Jennifer C. SHIEH. *Guide to research techniques in neuroscience*. Second edition. Amsterdam: Elsevier/AP, Academic Press is an imprint of Elsevier, [2015]. ISBN 978-0-12-800511-8.
- [33] REICHL, Jaroslav a Martin VŠETIČKA. Skenovací elektronový mikroskop. *Encyklopedie fyziky* [online]. [cit. 2019-03-19]. Dostupné z: <http://fyzika.jreichl.com/main/article/view/1675-skenovaci-elektronovy-mikroskop>.
- [34] VŮJTEK, Milan, Roman KUBÍNEK a Miroslav MAŠLÁŇ. *Nanoskopie*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, 2012. ISBN 978-80-244-3102-4.
- [35] Tip and Cantilever. In: *Dissemination of IT for the Promotion of Materials Science* [online]. University of Cambridge, 2009 [cit. 2019-02-28]. Dostupné z: <https://www.doitpoms.ac.uk/tlplib/afm/cantilever.php>.

- [36] Měřicí metoda FBRM. *Mettler Toledo* [online]. [cit. 2019-03-07]. Dostupné z: <https://www.mt.com/cz/cs/home/library/videos/automated-reactors/Lasentec-FBRM-Method-of-Measurement.html>.
- [37] Selecting In-Process: Particle-Size Analyzers. *CEP Magazine*. 2003, **2003**(August), 31-32.
- [38] JIANG, Lukan. *On line monitoring of crystallization process using FBRM and artificial neural network*. France, 2006. Diplomová práce. University of Claude Bernard Lyon 1.
- [39] GUERIN, E., P. TCHORELOFF, B. LECLERC, D. TANGUY, M. DELEUIL a G. COUARRAZE. Rheological characterization of pharmaceutical powders using tap testing, shear cell and mercury porosimeter. *International Journal of Pharmaceutics*. 1999, **189**(1), 91-103. DOI: 10.1016/S0378-5173(99)00243-4. ISSN 03785173.
- [40] MCGLINCHEY, Don. *Characterisation of Bulk Solids*. Oxford: Blackwell Publishing, 2005. ISBN 1-4051-1624-2.
- [41] JENIKE, Andrew W. Storage and Flow of Solids. *Bulletin No. 123*. 1964, **53**(26).
- [42] KUPSKÁ, Ivana. *Syntéza a modifikace fyzikálně-chemických vlastností gelových soustav pro terapeutické aplikace*. Zlín: Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně, 2017. ISBN 978-80-7454-691-4.
- [43] GRIMSEY, Ian M., Jane C. FEELEY a Peter YORK. Analysis of the surface energy of pharmaceutical powders by inverse gas chromatography. *Journal of Pharmaceutical Sciences* [online]. 2002, **91**(2), 571-583 [cit. 2019-04-09]. DOI: 10.1002/jps.10060. ISSN 00223549.
- [44] MOHAMMADI-JAM, S. a K.E. WATERS. Inverse gas chromatography applications: A review. *Advances in Colloid and Interface Science*. 2014, **212**, 21-44. DOI: 10.1016/j.cis.2014.07.002. ISSN 00018686.
- [45] LEITNER, Jindřich. Vliv velikosti a tvaru částic na vlastnosti léčiv. *Chemické listy*. 2018, **112**(8), 741-751. ISSN 1213-7103.
- [46] Analytical techniques in pharmaceutical analysis: A review. *Arabian Journal of Chemistry*. King Saud University, 2013, S1410-S1413. DOI: doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.04.016. ISSN 1878-5352.
- [47] BEREZKIN, V. G., V. R. ALISHOYEV a I. B. NEMIROVSKAYA. *Gas chromatography of polymers*. Distributors for the United States and Canada: Elsevier/North-Holland, 1977, s. 1-31. ISBN 978-0-444-41514-1.

- [48] SUDHAKAR, P., P. LATHA a P. V. REDDY. *Phenotyping crop plants for physiological and biochemical traits*. India: BS Publications, [2016]. ISBN 978-0-12-804073-7.
- [49] ŠIMEK, Michal, Bohumil KRATOCHVÍL a Veronika GRÜNVALDOVÁ. Současné metody měření velikosti částic farmaceutických látek a jejich omezení. *Chemické listy*. 2014, **108**(12), 50-55.
- [50] Laser Diffraction (LD): Particle size distributions from nanometers to millimeters. *Malvern Panalytical* [online]. [cit. 2019-04-06]. Dostupné z: <https://www.malvernpanalytical.com/en/products/technology/light-scattering/laser-diffraction>.
- [51] Compound Summary for CID 34040: Nicergoline. *PubChem* [online]. [cit. 2019-03-11]. Dostupné z: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/nicergoline#section=Top>.
- [52] *SOUHRN ÚDAJŮ O PŘÍPRAVKU: Sermion* [online]. In: . s. 3 [cit. 2019-03-01]. Dostupné z: www.sukl.cz/download/spc/SPC95310.doc.
- [53] Nicergoline: Identification. *DRUGBANK* [online]. [cit. 2019-03-11]. Dostupné z: <https://www.drugbank.ca/structures/DB00699/image.svg>.
- [54] *Mastersizer 2000 User Manual: Addendum 0070-2.0*. Velká Británie: Malvern Instruments, 2007.
- [55] DORRIS, Gilles M a Derek G GRAY. Adsorption of n-alkanes at zero surface coverage on cellulose paper and wood fibers. *Journal of Colloid and Interface Science*. 1980, **77**(2), 353-362. DOI: 10.1016/0021-9797(80)90304-5. ISSN 00219797.
- [56] VOLPE, C.Della a S. SIBONI. Some Reflections on Acid–Base Solid Surface Free Energy Theories. *Journal of Colloid and Interface Science*. 1997, **195**(1), 121-136. DOI: 10.1006/jcis.1997.5124. ISSN 00219797.
- [57] NSG30. *NT-MDT Spectrum Instruments* [online]. 2019 [cit. 2019-04-22]. Dostupné z: <https://www.ntmdt-tips.com/products/view/nsg30>
- [58] Drsnost povrchu. *Střední průmyslová škola Ostrava - Vítkovice, příspěvková organizace* [online]. Ostrava-Vítkovice, 2019 [cit. 2019-04-22]. Dostupné z: https://www.spszengrova.cz/texty/texty/TEK/Drsnost_povrchu.pdf